



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**Síntesis de 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamidas sustituidas diseñadas
por docking como potenciales agentes inactivantes de la Triosafosfato
Isomerasa (TIM) de *Trypanosoma cruzi***

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

QFB SONIA AGUILAR GONZÁLEZ



TUTOR: Dr. Francisco Hernández Luis AÑO: 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Dr. Luis Ángel Maldonado Graniel
VOCAL	Dr. Rafael Castillo Bocanegra
VOCAL	Dr. Gabriel Eduardo Cuevas González-Bravo
VOCAL	M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
SECRETARIO	Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ LA TESIS:

Laboratorio 122 del Departamento de Farmacia, Edificio E.
Facultad de Química. UNAM.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Francisco Hernández Luis por todo el apoyo, comprensión y paciencia que me ha brindado.

A los miembros del jurado que me fue asignado para la revisión de esta tesis por sus valiosos comentarios y sugerencias.

Al Doctor Alfredo Téllez Valencia y su equipo de trabajo por la determinación de la actividad de los compuestos sintetizados y reportados.

Al M. en C. Antonio Romo Mancillas por la realización del estudio de Docking de los compuestos reportados en esta tesis.

Al personal de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), por la determinación de los espectros de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para la realización de mis estudios de maestría (becario 216091).

A Marco.

A mi mamá y mi hermano. A mis tías Hilda y Yazmin. A Liz, José, Omar, Nely y Jaz.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas.....	2
2.2. Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	3
2.3. Vías de transmisión de la Enfermedad de Chagas.....	4
2.4. Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas.....	5
2.5. Medidas de control de <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
2.6. Tratamiento de la enfermedad de Chagas.....	6
2.6.1. Mecanismo de acción de los fármacos Nifurtimox y Benznidazol.....	7
2.6.2. Limitaciones de los fármacos de uso actual en el tratamiento del mal de Chagas.....	8
2.7. Nuevas perspectivas en el desarrollo de agentes con actividad anti- <i>T. cruzi</i>	8
3. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO DE COMPUESTOS NOVEDOSOS CON POSIBLE ACTIVIDAD INHIBIDORA DE LA cTIM	12
3.1. Intercambio bioisostérico como una estrategia para el diseño de fármacos.....	12
3.2. Estudios de Docking de compuestos bencimidazólicos como potenciales inhibidores de la cTIM.....	14
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	18
5.1. Hipótesis.....	18
5.2. Objetivo general.....	18
5.3. Objetivos particulares.....	18
6. METODOLOGÍA	20
6.1. Parte química.....	20
6.1.1. Síntesis de las 2-(1 <i>H</i> -bencimidazol-2-iltio)acetamidas B7 y B8	20
6.1.2. Síntesis de las 2-tioacetamidas B10 y B12	22
6.1.3. Obtención de la 2-tioacetamida B9	24
6.1.4. Obtención de la 2-tioacetamida B11	24
6.2. Parte biológica.....	24
6.2.1. Prueba de inhibición de la Triosafofosfato Isomerasa (TIM).....	24
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
7.1. Parte química.....	26
7.1.1. Constantes físicas.....	26
7.1.2. Síntesis química.....	26
7.1.2.1. Obtención de los precursores 7 , 8 y 9	26
a) Síntesis del 5-cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol (7).....	26
b) Síntesis de la 2-cloro- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)acetamida (8) y de la 2-cloro- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9).....	29
7.1.2.2. Obtención de las 2-tioacetamidas finales B7 y B8	30
7.1.2.3. Obtención del precursor 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)bencimidazol (14).....	31
7.1.2.4. Obtención de las 2-tioacetamidas finales B10 y B12	32
7.1.2.5. Obtención de las 2-tioacetamidas finales B9 y B11	34
7.1.2.6. Síntesis de los precursores 4 y 5 con ayuda de microondas.....	37
7.2. Parte biológica.....	39
7.2.1. Resultados de la actividad de los compuestos B7-B10 y B12 frente a la enzima TIM de <i>T. cruzi</i>	39

7.2.2. Comparación de los resultados de actividad de los compuestos B7-B10 y B12 frente a la enzima cTIM y los datos de Docking previamente obtenidos.....	41
8. CONCLUSIONES	43
9. PARTE EXPERIMENTAL	44
9.1. Instrumentación.....	44
9.2. Cromatografía.....	44
9.3. Procedimientos experimentales para la síntesis de los precursores y compuestos finales.....	45
9.3.1. <i>N</i> -(3,4-diclorofenil)acetamida (1).....	45
9.3.2. <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (2).....	45
9.3.3. 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (3).....	46
9.3.4. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4). Método 1. A partir de la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (3).....	46
9.3.5. <i>N</i> -[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5).....	47
9.3.6. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4). Método 2. A partir de la <i>N</i> -[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5).....	47
9.3.7. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (6).....	48
9.3.8. 5-Cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol (7).....	48
9.3.9. 2-Cloro- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)acetamida (8).....	49
9.3.10. 2-{{6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il}tio}- <i>N</i> -1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7).....	49
9.3.11. 2-Cloro- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9).....	50
9.3.12. 2-{{6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il}tio}- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8).....	50
9.3.13. <i>N</i> -(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (10).....	51
9.3.14. 4,5-dicloro- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (11).....	51
9.3.15. 4-Cloro- <i>N</i> -metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (12).....	52
9.3.16. 4-Cloro- <i>N</i> -metil-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (13).....	52
9.3.17. 5-Cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)-bencimidazol (14).....	53
9.3.18. 2-{{5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il}tio}- <i>N</i> -1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10).....	53
9.3.19. 2-{{5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il}tio}- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12).....	54
9.3.20. 2-{{6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il}tio}- <i>N</i> -1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9).....	55
10. BIBLIOGRAFÍA	56
11. APÉNDICE	61
11.1. Constantes físicas y rendimientos de los compuestos finales sintetizados.....	61
11.2. Constantes físicas y rendimientos de los precursores sintetizados.....	62
11.3. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos finales.....	64
11.4. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los precursores sintetizados.....	66
11.5. Espectros.....	68

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias producidas por helmintos y protozoarios representan un grave problema en países en vías de desarrollo afectan principalmente a la población infantil, causando lento desarrollo corporal e intelectual.

Entre las protozoosis con mayor prevalencia en América Latina se encuentra la enfermedad de Chagas o tripanosomiosis americana, que es una enfermedad sistémica y crónica transmitida por la picadura del artrópodo *Triatoma infestans* o “chinche besucona” y cuyo agente etiológico es el protozoario *Trypanosoma cruzi*. Aún cuando esta infección es considerada endémica de países latinoamericanos, hoy en día se está convirtiendo en un problema de salud importante en Estados Unidos y Europa, donde se ha incrementado considerablemente el número de casos por transmisión no vectorial.

Actualmente, la prevención y control de la enfermedad de Chagas se basa en la interrupción de la transmisión vectorial, el análisis sistemático de la sangre de los donadores en países donde se considera endémica, la detección y tratamiento de la transmisión congénita y en el uso de fármacos tripanocidas.

Los fármacos de uso actual para el tratamiento de esta enfermedad son los nitroheterociclos Nifurtimox y Benznidazol. Sin embargo, estos compuestos presentan severas desventajas como efectos terapéuticos variables y reacciones adversas derivadas del prolongado tratamiento al que deben someterse los pacientes, particularmente los inmunocomprometidos. Aunado a lo anterior, el desarrollo de resistencia mostrado por el parásito y la inexistencia de una vacuna efectiva hacen indispensable el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

En la actualidad, el conocimiento de los procesos bioquímicos de *T. cruzi* ha permitido la identificación de nuevas dianas potenciales para el diseño de compuestos con actividad tripanocida, lo que junto al uso de herramientas computacionales como el Docking, permite la búsqueda de nuevos principios activos, cuyas características estructurales les confieran las propiedades terapéuticas esperadas, menor toxicidad, mayor especificidad y eficiencia.

En esta tesis se pretende aportar un poco más sobre los requerimientos estructurales necesarios para la actividad tripanocida, a través de la síntesis de nuevas moléculas de tipo bencimidazólico, así como la determinación de su actividad.

Los datos obtenidos, complementados con estudios computacionales, servirán para establecer posteriormente relaciones cuantitativas de estructura-actividad lo que permitirá el diseño de nuevas moléculas con mejores probabilidades de actividad tripanocida, apoyando así proyectos futuros.

2. ANTECEDENTES

2.1. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas

Las enfermedades ocasionadas por helmintos y protozoarios son un problema importante de salud pública en el mundo, sobre todo en países en vías de desarrollo.^{1,2} Se estima que más del 50% de la población mundial padece algún tipo de parasitosis, afectando principalmente a niños de 1-9 años.^{1,2} Debido a su prevalencia, las parasitosis ocasionadas por helmintos y protozoarios son las de mayor importancia a nivel mundial.¹⁻³

Una de las protozoosis con mayor incidencia en Latinoamérica es la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana. Ésta afecta a entre 16 y 18 millones de personas² con un rango de mortalidad del 8-12%.⁴⁻⁵ Esta enfermedad es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y representa un riesgo de infección para 100 millones de personas.^{2,4-6}

Aunque la distribución de los focos naturales de transmisión abarca desde México hasta Argentina (Figura 2.1),² se ha notificado un incremento de casos debidos a transmisión no vectorial en Estados Unidos y Europa debido a los fenómenos masivos de migración.^{5,7-8}

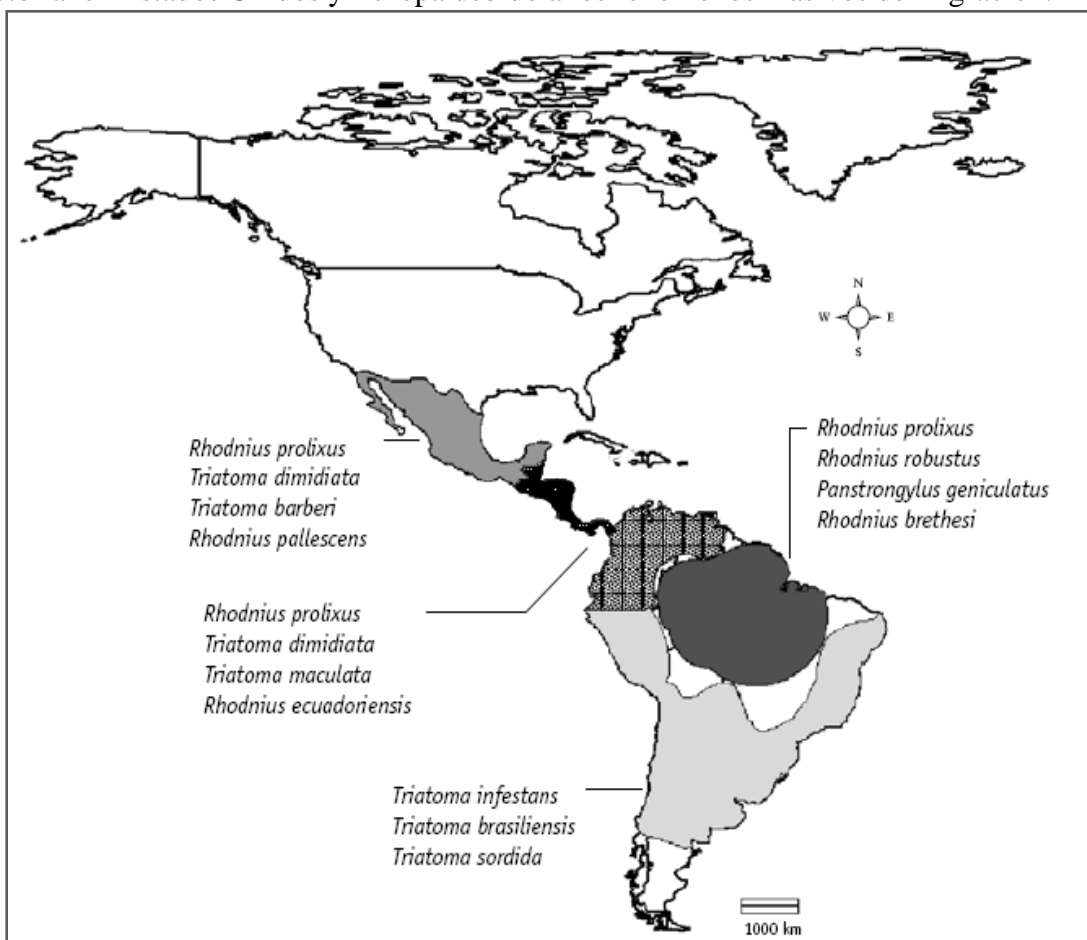


Figura 2.1. Distribución geográfica de los principales vectores de transmisión de la enfermedad de Chagas.

La importancia de prevenir y tratar oportunamente dicha enfermedad recae tanto en la alta propagación del parásito, como en las complicaciones resultantes de su invasividad, entre las que destacan el desarrollo de cardiomegalia, hepatomegalia, esplenomegalia y miocarditis de intensidad variable, entre otras.^{9,5-6}

2.2. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), es un protozoo intracelular monoflagelado que se presenta en la naturaleza con cuatro estadios morfológicos principales que son: tripomastigote, promastigote, epimastigote y amastigote⁹ (Figura 2.2).¹⁰

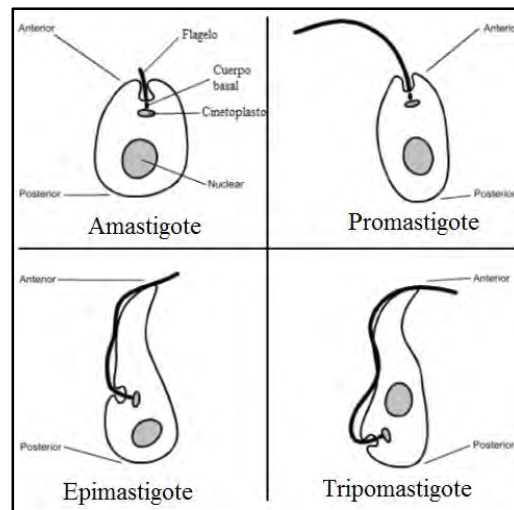


Figura 2.2. Estadios morfológicos de *T. cruzi*.

El ciclo biológico del parásito (Figura 2.3)¹⁰ se inicia cuando un triatomino pica a un mamífero y le succiona sangre que contiene tripomastigotes circulantes, los cuales pasan al intestino del triatomino, se transforman en epimastigotes, se multiplican por fisión binaria longitudinal y se convierten en tripomastigotes metacíclicos, que es la forma infectante para un nuevo huésped mamífero.^{6,9,11}

Cuando un triatomino infectado se alimenta de la sangre de una persona, ingiere varias veces su peso corporal en sangre por lo que defeca sobre la piel o mucosa depositando junto con su excremento a los tripomastigotes metacíclicos infectantes.^{6,9,11} Los tripomastigotes atraviesan la piel indemne a través de la herida producida por la picadura, al arrastrar el triatomino la materia fecal con las patas hacia la herida o cuando la persona se rasca.^{6,9,11}

Una vez en el mamífero, los tripomastigotes son fagocitados por macrófagos y otras células del tejido cercano al sitio de la penetración, en donde adoptan la forma de amastigotes.^{6,9,11} El amastigote evade el sistema de lisosomas escapando al citosol de la célula infectada donde se multiplican por fisión binaria y llenan la célula, que al no soportar el número de parásitos se revienta, los amastigotes salen a la circulación y se transforman en tripomastigotes sanguíneos, diseminándose por vía hematogena por todo el organismo.^{6,9,11-13} Después, los tripomastigotes penetran nuevamente a las células, se transforman en amastigotes, se multiplican profusamente, rompen las células y repiten el mecanismo.^{6,9,11}

El ciclo biológico se completa cuando un triatomino libre de infección pica a la persona y se infecta con tripomastigotes sanguíneos.^{6,9,11}

Los órganos más vulnerables a la infección son el bazo, hígado, glándulas linfoides y células musculares, mientras que otras áreas como los sistemas nervioso y reproductivo, el intestino y la médula ósea son invadidos ocasionalmente.⁶

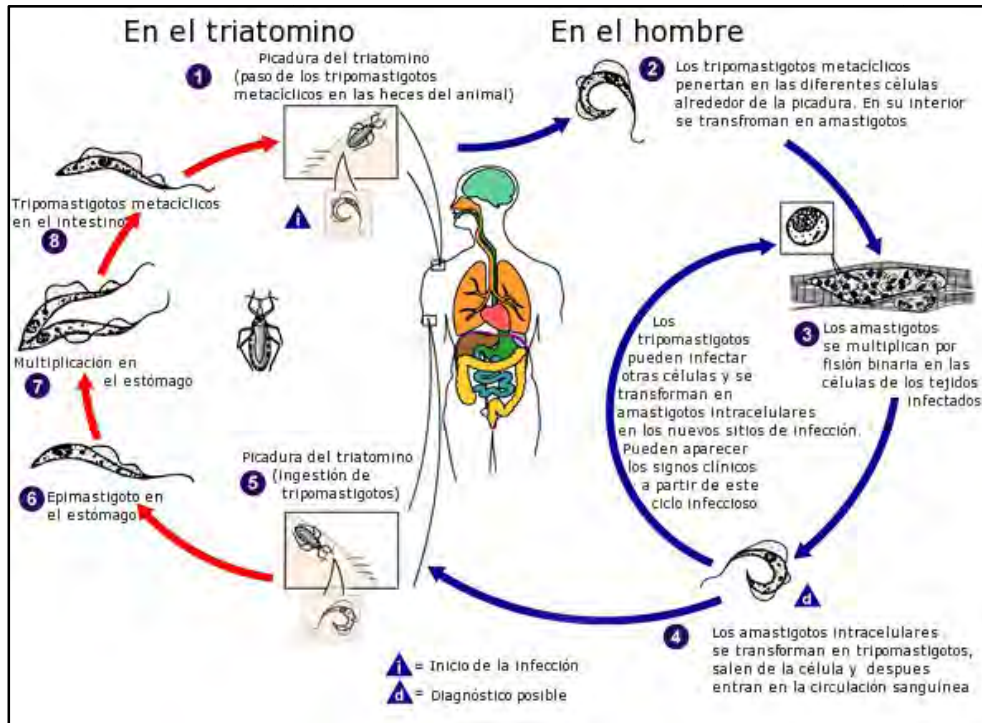


Figura 2.3. Ciclo biológico del protozario *T. cruzi*.

2.3. Vías de transmisión de la Enfermedad de Chagas

Se ha encontrado que *T. cruzi* es capaz de ingresar al humano de distintas formas, entre las que destacan:

1. Transmisión vectorial. En el 80% de los casos, la enfermedad se adquiere por la picadura de triatominos, también conocidos como vinchucas o chinches besuconas.^{8,9,11,14-16}
2. Vía transplacentaria. Durante la segunda mitad de la gestación, es posible que el parásito atraviese la barrera placentaria e infecte al producto.^{9,11,13,17}
3. Transfusión sanguínea. Aún cuando en países endémicos se ha reducido significativamente el contagio por esta vía de transmisión, en países donde no se tiene un control adecuado de los donadores, puede utilizarse la sangre infectada y así transmitir el protozario.^{7-9,11,13-14,16-17}

4. Por leche materna. La ocurrencia de transmisión por esta vía es rara y pocos casos se han descrito.^{9,11,16}
5. Manipulación de animales infectados. Este mecanismo de transmisión sucede sobre todo a cazadores que desollan animales silvestres^{9,11} y por contacto con animales domésticos infectados.^{9,11,16}
6. Infecciones en el laboratorio. Al manipular sangre contaminada con el parásito, animales utilizados para mantener las cepas de *T. cruzi* y cultivos de dicho protozooario.^{9,11,16}
7. Ingestión de alimentos contaminados. Al ingerir alimentos que estuvieron en contacto con materia fecal de una chinche infectada. No es frecuente y por lo tanto es de escasa importancia epidemiológica.^{9,11,14,18,}

2.4. Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas

A la penetración de *T. cruzi* en el organismo, sigue un período de incubación que suele durar entre 4-14 días en caso de transmisión vectorial y entre 20-40 días en caso de transfusión sanguínea.^{9,11,17} Durante este período, el parásito se multiplica rápidamente debido a que no se presenta reacción inflamatoria alrededor de las células infectadas ni una respuesta inmune específica.¹⁹

Después de este lapso suelen distinguirse distintas etapas, que se describen a continuación:

1. Fase Aguda. Esta fase se caracteriza por la detección de parásitos en sangre^{6-7,20-21} y pueden presentarse malestares como dolor de cabeza, dolor muscular y fiebre, que son fácilmente confundidos con otras enfermedades.^{6-7,9,11,20}

Entre las manifestaciones clínicas relacionadas con la entrada del parásito se encuentra la aparición de un edema unilateral, asociado con conjuntivitis conocido como *Signo de Romana*, que aparece cuando el sitio de picadura del triatomino es en el área cercana a la conjuntiva.^{6,9,20}

En otras ocasiones puede presentarse un *Chagoma de inoculación*, que es un nódulo subcutáneo localizado en el sitio de penetración del protozooario que se confunde frecuentemente con otros padecimientos de la piel.^{6,9,19}

Las manifestaciones de la fase aguda se solucionan espontáneamente en un plazo entre 3 y 8 semanas en aproximadamente el 90% de los individuos que han sido infectados.^{9,11,17}

2. Fase indeterminada. En esta etapa los parásitos se multiplican lentamente dentro de las células y los que llegan a la circulación son destruidos por los anticuerpos. Hay una disminución casi total de la sintomatología, permaneciendo esta situación por mucho tiempo sin que haya curación espontánea.^{6,8-9,11}

- 3. Fase crónica.** Después de 10-30 años de la aparición de la fase aguda, en la que pudieron o no presentarse síntomas, pueden aparecer los signos clínicos relacionados con esta etapa,^{8-9,11,22} en la que los pacientes con enfermedad de Chagas suelen presentar daño irreversible en el corazón u otros órganos, que se descubren por hallazgos electrocardiográficos, radiológicos o en muchos casos, cuando el paciente sufre un infarto.^{8-9,11,22}

La cardiomiopatía chagásica crónica es la forma más común y severa de la enfermedad y afecta aproximadamente al 30-40% de los pacientes.^{8,11,19,23} Ésta se caracteriza por una reacción inflamatoria difusa y fibrosis severa, como consecuencia de la producción de citocinas proinflamatorias.²⁴ Los rasgos clínicos más sobresalientes en esta fase son la cardiomegalia e insuficiencia cardíaca de predominio derecho.⁹

Por otra parte, un gran número de pacientes con enfermedad de Chagas crónica desarrollan manifestaciones clínicas como megaesófago y megacolon,^{8-9,11,23} cuyos síntomas principales son trastornos en la motilidad esofágica, disfagia y dolor epigástrico en el primer caso y estreñimiento severo, dolor abdominal y obstrucción de la vejiga en el segundo.^{8-9,11,23}

2.5. Medidas de control de *Trypanosoma cruzi*

Debido a que en la cadena de transmisión de *T. cruzi* intervienen un gran número de reservorios vertebrados y de insectos triatominos vectores, se hace imposible su erradicación, por lo que los programas de control vectorial de la enfermedad de Chagas sólo pueden estar dirigidos hacia la disminución de las poblaciones de triatominos mediante el uso de insecticidas y no a su erradicación.^{5,9}

Por lo tanto, la principal estrategia de control de la enfermedad de Chagas consiste en el rociamiento periódico de las viviendas con insecticidas de efecto residual, con lo que se impide a los habitantes estar en contacto con los insectos vectores.^{5,9,25} Sin embargo, debido a que el efecto de los insecticidas es temporal, se requiere de un programa de vigilancia entomológica paralelo y programas de fumigación periódicos.^{5,9,25}

Por otra parte, la reciente aparición de cepas de *Triatoma infestans* con resistencia a los insecticidas piretroides utilizados para su control, complica aún más las operaciones de los programas de control vectorial, ya que se ha demostrado que los insectos que presentan este tipo de resistencia, sólo son susceptibles a insecticidas organofosforados, cuya toxicidad limita su uso.^{5,25}

2.6. Tratamiento de la enfermedad de Chagas

El tratamiento actual de esta enfermedad es muy limitado y los únicos fármacos disponibles son los nitroderivados Nifurtimox y Benznidazol (**Figura 2.4**).^{4,20,23,26-29}

Desafortunadamente estos compuestos no han presentado resultados del todo satisfactorios, ya que aún cuando presentan actividad sobre los tripomastigotes y detienen la infección

provocada por éstos, su efecto sobre los amastigotes que se encuentran dentro de las células es limitado, lo que restringe su uso a la fase aguda de la enfermedad.^{4,9,23,30-32}

No obstante, aún cuando la efectividad del benznidazol contra *T. cruzi* durante la fase crónica de la enfermedad es controversial, estudios en Argentina han revelado que el tratamiento con este fármaco puede reducir el progreso de la enfermedad de Chagas en pacientes que se encuentran en la fase crónica, pero que no presentan daño cardíaco, lo que indica que el tratamiento de este grupo de pacientes con benznidazol es benéfico.⁸

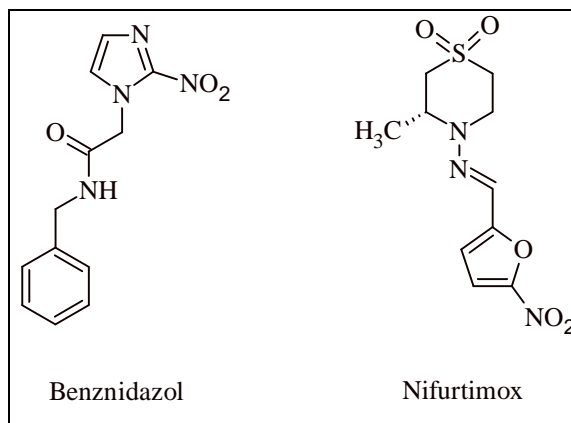


Figura 2.4. Fármacos de uso actual para el tratamiento de la tripanosomiosis americana.

2.6.1. Mecanismo de acción de los fármacos Nifurtimox y Benznidazol

El mecanismo de acción de estos compuestos se atribuye a la reducción de su grupo nitro por componentes de la cadena de transporte de electrones como flavoproteínas y ferredoxinas.²⁹ Los productos de la reducción son principalmente especies reactivas de oxígeno que reaccionan con macromoléculas como el ADN, ARN, proteínas endógenas e incluso ocasionan la lipoperoxidación de la membrana del parásito, lo que produce consecuentemente la muerte del mismo (**Figura 2.5**).²⁹

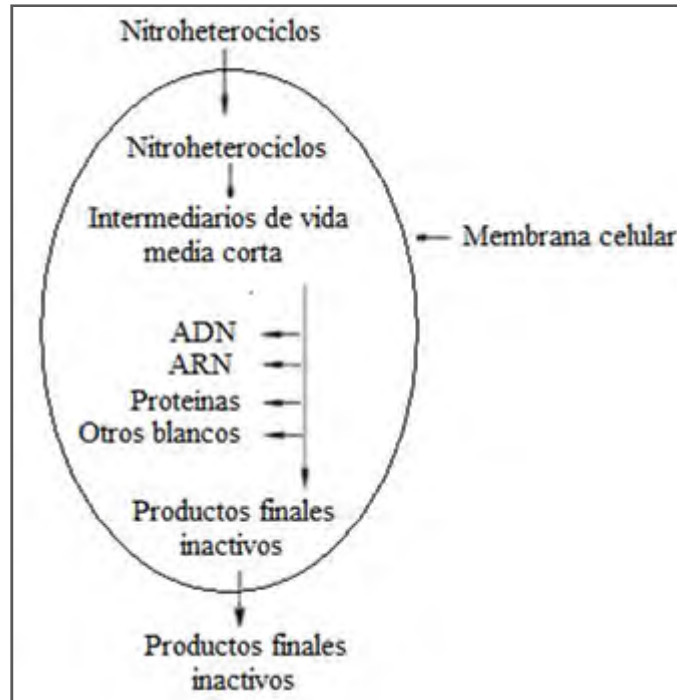


Figura 2.5 Mecanismo de acción de los nitroheterociclos.

2.6.2. Limitaciones de los fármacos de uso actual en el tratamiento del mal de Chagas

Algunas de las limitaciones del uso de estos fármacos es el largo tratamiento al que deben someterse los pacientes y los efectos adversos producidos por su consumo,^{4,13,20} entre los que se encuentran desde reacciones dermatológicas leves, hasta mutagénesis y depresión de la médula ósea, que se manifiesta como neutropenia, agranulocitosis y púrpura trombocitopénica, además de la modificación de la respuesta inmune.^{26-28,33}

Aunado a lo anterior, estos compuestos presentan efectos terapéuticos variables de acuerdo a la zona geográfica donde se contraiga la enfermedad debido a la existencia de diferentes cepas del parásito que presentan distinta sensibilidad a dichos fármacos.^{4,34}

Además, se ha reportado que ciertas cepas de *T. cruzi* han desarrollado resistencia al tratamiento.^{20,26-27,34}

2.7. Nuevas perspectivas en el desarrollo de agentes con actividad anti-*T. cruzi*

Hoy en día grupos de trabajo multidisciplinarios estudian diversas dianas moleculares para tratar de identificar potenciales moléculas con propiedades anti-*T. cruzi*.³⁵⁻³⁶

En muchos casos, la búsqueda de nuevos compuestos tripanocidas se basa en hallar agentes que eliminen al parásito afectando sus funciones enzimáticas,³¹ entre los cuales destacan los siguientes.

Inhibidores de la proteasa de cisteína (cruzipaína). *T. cruzi* posee una catepsina conocida como *cruzipaína*, que es responsable de la mayor actividad proteolítica en todos los estadios del ciclo de vida del parásito.^{23,37,38} Inhibidores selectivos de esta proteasa

bloquean la proliferación de epimastigotes y amastigotes y evitan la metacicloogénesis (transformación de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos) *in vitro*, lo que indica que la enzima realiza funciones especiales para la supervivencia y el crecimiento del parásito.^{4,13,20}

Inhibidores de la síntesis y el metabolismo de la tripanotona. Recientemente se han identificado las enzimas involucradas en la síntesis y el metabolismo redox de la tripanotona como un blanco quimioterapéutico potencial.³⁹⁻⁴¹ Esta ruta bioquímica es única en los protozoos cinetoplástidos, lo que la hace una diana prometidora para la búsqueda de agentes contra *T. cruzi*.³⁹⁻⁴¹ El diseño y las pruebas de inhibidores específicos está en progreso actualmente y muchas familias de compuestos se han identificado como inhibidores de la tripanotona reductasa, pero aún no se ha demostrado selectividad por esta enzima.³⁹⁻⁴¹

Inhibidores de la vía glicolítica. Dado que la glicólisis es la única fuente de energía en *T. cruzi*, las enzimas encargadas de la vía glicolítica en el parásito se han convertido en una excelente diana biológica para el desarrollo de nuevos agentes tripanocidas,³³⁻³⁴ sobre todo debido a las diferencias estructurales, cinéticas y de regulación que existen entre las enzimas glicolíticas del parásito y las presentes en humanos.^{23,34}

Una de las enzimas que ha sido extensamente estudiada es la Triosafosfato isomerasa (TIM),²³ que cataliza la interconversión entre el gliceraldehído-3-fosfato y la dihidroxiacetona-3-fosfato⁴² (**Figura 2.6**).⁴³ Esta enzima se encuentra como un homodímero y cada uno de sus monómeros consiste de 8 láminas beta centrales rodeadas de 8 α -hélices.⁴² Aún cuando cada uno de los monómeros cuenta con su propio sitio activo, sólo la forma dimérica de la enzima es activa, por lo que una estrategia en el desarrollo de nuevos agentes tripanocidas se enfoca en la disrupción del dímero.^{30,44-45}

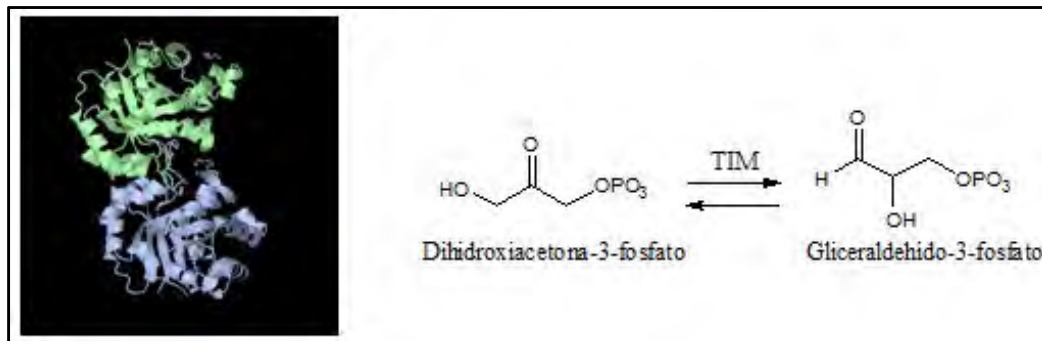


Figura 2.6. Triosafosfato isomerasa y la reacción que cataliza.

Dado que esta enzima se encuentra presente tanto en humanos como en el parásito, la búsqueda de inhibidores selectivos contra *T. cruzi* es evidente.³⁰

Recientemente se han logrado avances a este respecto y se han reportado tres benzotiazoles sustituidos que inhiben directamente la interfase enzimática de la TIM y que muestran selectividad por la enzima del parásito (**Figura 2.7**).^{30-31,46}

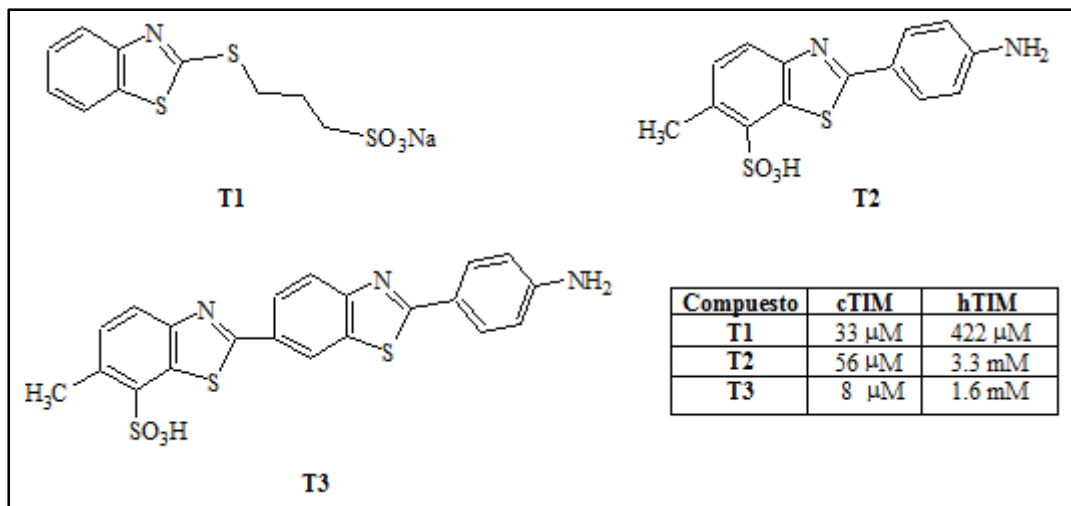


Figura 2.7. Inhibidores de tipo benzotiazol selectivos contra la TIM de *T. cruzi* y sus respectivas CI_{50} .

Aunque el origen de la selectividad de estos compuestos no queda del todo clara, se ha encontrado que inhibidores de este tipo se unen preferentemente a los cúmulos aromáticos en la tercer asa de la interfase de las subunidades³⁰ (**Figura 2.8**).⁴³

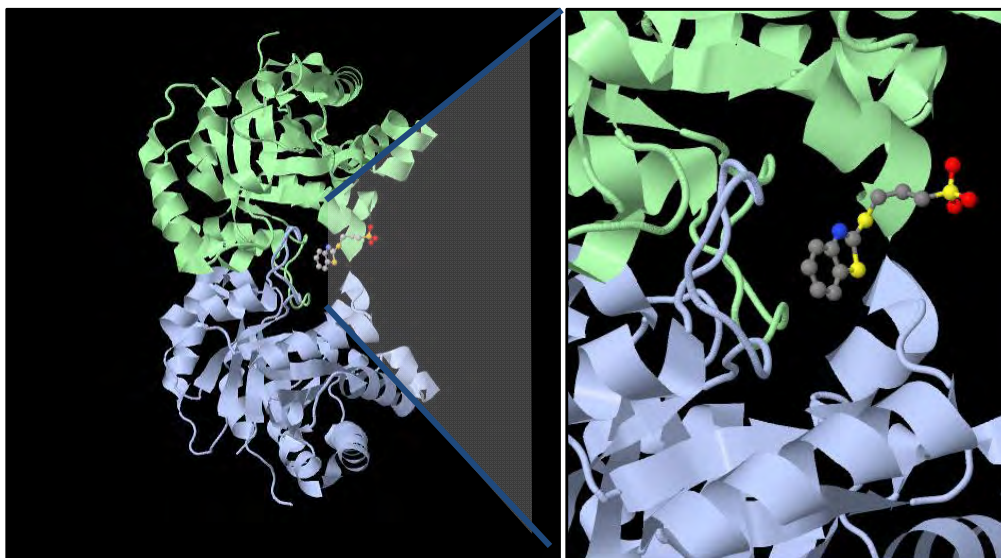


Figura 2.8. Interacción entre el benzotiazol T1 y la cTIM.

Estudios recientes muestran que en dicho sitio existe una diferencia importante entre la TIM humana (hTIM) y la TIM de *T. cruzi* (cTIM), ya que en la primera hay una metionina mientras que en la segunda hay una cisteína.^{30-31,44,47} Debido a lo anterior, se ha encontrado que en la cTIM existe una cavidad de mayor tamaño entre las subunidades, mientras que el arreglo conformacional en la hTIM reduce la accesibilidad a esta región ya que existen fuerzas de interacción de tipo van der Waals entre el grupo metilo de la metionina (Met15), una valina (Val71) y una fenilalanina (Phe75) adyacentes, lo que impide que los benzotiazoles más grandes interaccionen en este sitio³⁰ (**Figura 2.9**).³¹

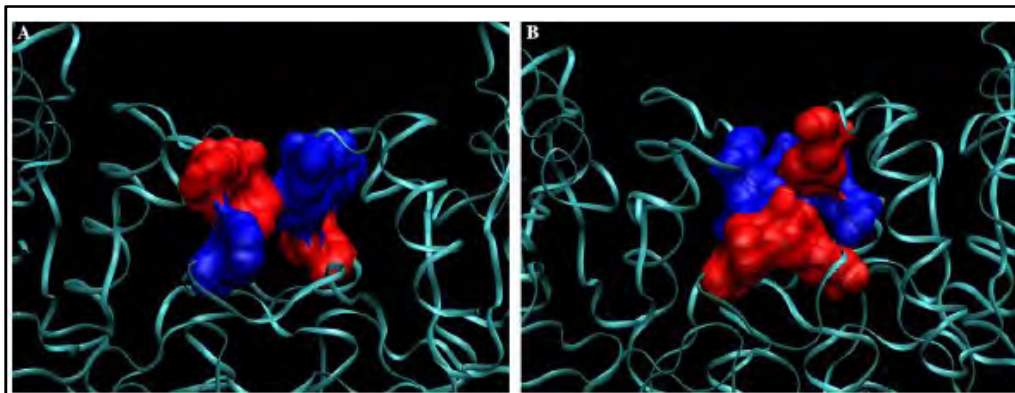


Figura 2.9. Representación de los cúmulos aromáticos en cTIM (A) y hTIM (B).

Análisis energéticos y estructurales del complejo enzima-inhibidor demuestran que los benzotiazoles de mayor tamaño, como los arriba mencionados, pueden formar complejos energéticos más estables con la cTIM que con la hTIM, mientras que los benzotiazoles pequeños forman complejos de estabilidad similar con ambas enzimas.^{30,46} Por lo anterior se cree que la accesibilidad a los sitios aromáticos localizados en la interfase de la cTIM es un factor importante a considerar en el diseño de fármacos selectivos.⁴⁶

Por otro lado, aunque en un inicio se creía que la presencia del grupo sulfonato era indispensable para que los benzotiazoles presentaran actividad contra la cTIM, estudios recientes demuestran que no es así, ya que los compuestos con este grupo son más activos sólo debido al incremento de solubilidad en el medio biológico y no por que el sulfonato favorezca la estabilidad del complejo enzima-inhibidor.⁴⁵

3. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO DE COMPUESTOS NOVEDOSOS CON POSIBLE ACTIVIDAD INHIBIDORA DE LA cTIM

Una vez establecida la situación actual de la enfermedad de Chagas y su tratamiento, así como la necesidad del desarrollo de nuevos fármacos, se resumen a continuación las modificaciones moleculares y estrategias mediante las que han sido diseñados los compuestos que conforman este proyecto.

3.1. Intercambio bioisotérico como una estrategia para el diseño de fármacos

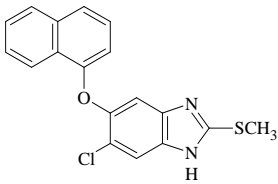
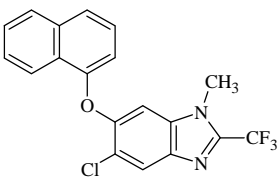
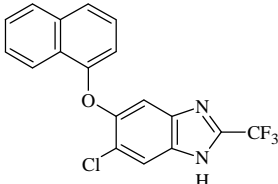
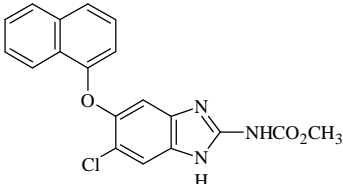
La variación molecular es uno de los métodos utilizados en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos y se basa en la modificación de una molécula con actividad conocida a fin de obtener un nuevo compuesto que pueda presentar actividad farmacológica.⁴⁸

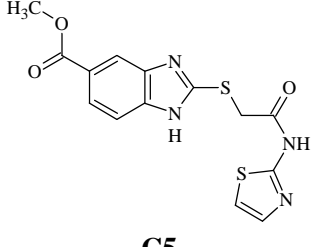
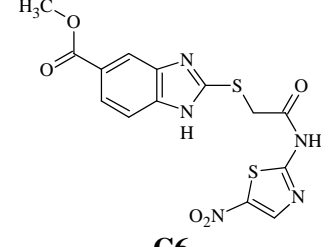
Uno de los métodos de variación molecular es el *intercambio bioisotérico*, que consiste en la sustitución de un grupo de átomos o moléculas por otros cuyo arreglo de electrones les confiere propiedades físicas y químicas similares y que además producen respuestas biológicas similares.⁴⁹ Por tal motivo, ésta es una de las variaciones moleculares más explorada en el diseño de nuevos principios activos.⁴⁹

Debido a que recientemente fueron informados benzotiazoles que presentan actividad inhibidora selectiva sobre la cTIM (**Figura 2.7**),³⁰ nuestro grupo de trabajo se planteó la posibilidad de realizar una sustitución bioisotérica del benzotiazol por un bencimidazol y de esta forma establecer cual es la importancia del benzotiazol en la actividad sobre dicha enzima.

Para tal fin, fueron evaluados varios bencimidazoles que fueron obtenidos con anterioridad y que presentan buena actividad contra protozoarios como *G. intestinalis* y que por sus características estructurales fueron considerados potenciales inhibidores de la cTIM.^{48,51-52} Los resultados de dicho estudio se muestran en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1. Porcentaje de inhibición de derivados bencimidazólicos sobre la cTIM y la hTIM^a

Compuesto	cTIM	hTIM	Compuesto	cTIM	hTIM
 <p>C1 (Alfa)</p>	9	0	 <p>C2</p>	27	8
 <p>C3</p>	12	3	 <p>C4</p>	89	33

 <p>C5</p>	5	Ni	 <p>C6</p>	52	Ni
--	---	----	---	----	----

^a Todos los compuestos fueron ensayados a una concentración de 200 μ M Ni. No informada

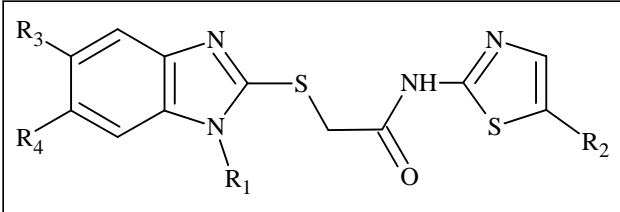
Una característica importante de la actividad mostrada por los compuestos anteriores es que la presencia de un sustituyente voluminoso en la posición 2 del anillo de bencimidazol parece favorecer la inhibición de la cTIM. Por otra parte los sustituyentes naftiloxi y cloro, presentes en los compuestos **C1-C4**, parecen influir de alguna forma en la selectividad que estos compuestos presentaron sobre la cTIM.

También cabe mencionar que los compuestos **C5** y **C6** son considerados “compuestos híbridos”, ya que están conformados por dos núcleos farmacofóricos distintos (bencimidazol y tiazol) unidos mediante un enlace covalente en una misma molécula.⁵⁰

En los resultados de actividad de dichos compuestos híbridos puede observarse una diferencia significativa, ya que la presencia de un sustituyente nitro en el anillo de tiazol del compuesto **C6** incrementó la actividad con respecto a su análogo no nitrado.

Una vez establecido lo anterior, se propusieron los compuestos **B7-B12** (Tabla 3.2) que en su estructura presentan tanto los sustituyentes naftiloxi y cloro, así como un sustituyente voluminoso derivado del 2-aminotiazol en la posición 2 del anillo bencimidazólico.

Tabla 3.2. Compuestos híbridos derivados de los núcleos bencimidazol y tiazol

				
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
B7	H	H	α -naftoxi	Cl
B8	H	NO ₂	α -naftoxi	Cl
B9	CH ₃	H	α -naftoxi	Cl
B10	CH ₃	H	Cl	α -naftoxi
B11	CH ₃	NO ₂	α -naftoxi	Cl
B12	CH ₃	NO ₂	Cl	α -naftoxi

Se incluyeron tanto los derivados nitrados como no nitrados en el anillo de tiazol a fin de establecer la importancia de este sustituyente en la actividad inhibidora de la cTIM de este grupo de compuestos y un sustituyente metilo en la posición 1 de los compuestos **B9-B12**, con el propósito de establecer la importancia del hidrógeno en esta posición y evitar el efecto tautomérico debido a la migración del hidrógeno de la posición 1 a la posición 3 del anillo bencimidazólico (**Figura 3.1**).⁴⁸ Con esto se consiguieron dos pares de regioisómeros, que eventualmente darán mayor información sobre los requerimientos estructurales para que estos compuestos presenten actividad biológica.

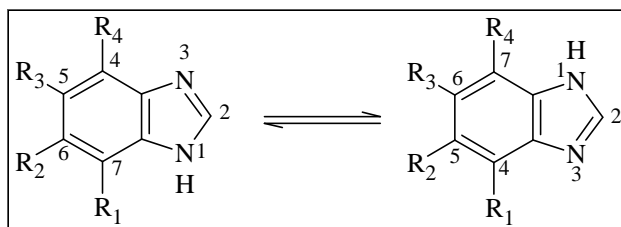


Figura 3.1 Formas tautoméricas del 1H-bencimidazol.

Finalmente, se realizó un estudio preliminar de Docking de los compuestos anteriores para determinar si sus características estructurales son las adecuadas para que exista inhibición de la enzima cTIM, por lo que a continuación se describe brevemente dicha herramienta computacional y los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo.

3.2. Estudios de Docking de compuestos bencimidazólicos como potenciales inhibidores de la cTIM

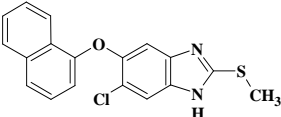
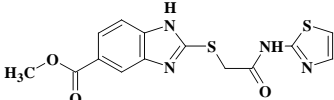
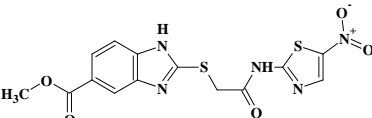
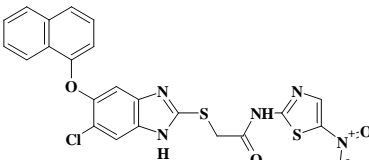
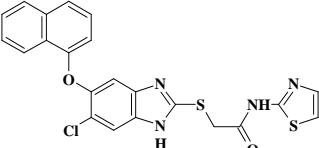
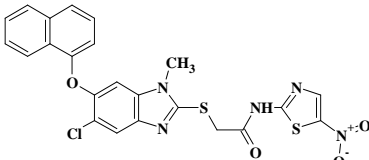
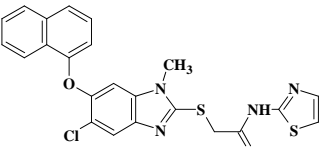
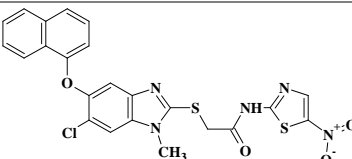
A grandes rasgos, puede decirse que el Docking es un método computacional que predice la orientación de un ligando en su receptor, cuando éstos forman un complejo estable.⁵³

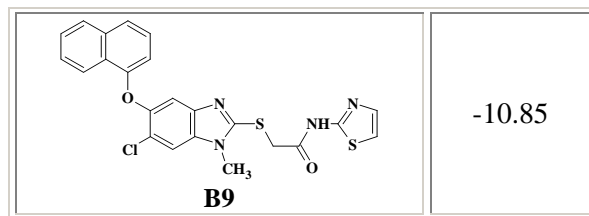
Este método consiste en el cálculo de los mínimos energéticos, expresados en términos de energía libre (ΔG), de cada una de las moléculas involucradas en la interacción y del complejo formado entre ellas, con lo que puede determinarse su orientación relativa en el complejo y la forma en que se establece el reconocimiento entre los átomos que conforman a ambas moléculas.⁵⁴

El resultado de energía libre que se obtiene para el sistema, puede ser utilizado para predecir la afinidad que existe entre las dos moléculas,⁵⁴ por lo que el Docking se utiliza con frecuencia para predecir la orientación de moléculas con potencial farmacológico en una proteína determinada, la afinidad de la molécula hacia dicha proteína y la actividad que podría presentar el compuesto en un modelo biológico, por lo que esta herramienta computacional es muy utilizada en el diseño de fármacos.⁵³⁻⁵⁴

Nuestro grupo de trabajo reportó con anterioridad el estudio de Docking de los derivados bencimidazólicos **C1**, **C5-C6** y **B7-B12**,⁵⁵ con la finalidad de establecer una relación entre la estructura de estos compuestos y su actividad inhibidora sobre la enzima cTIM. Se utilizó el programa Autodock 3.0⁵⁶ y los datos de energía (ΔG) de los complejos enzima-inhibidor obtenidos se presentan en la **Tabla 3.3**.⁵⁵

Tabla 3.3. ΔG de la interacción de los compuestos **C1**, **C5-C6** y **B7-B12** con la enzima TIM de *T. cruzi*

Compuesto	ΔG_{cTIM} (Kcal/mol)
 <p>C1</p>	-8.95
 <p>C5</p>	-8.79
 <p>C6</p>	-9.94
 <p>B8</p>	-9.64
 <p>B7</p>	-9.98
 <p>B12</p>	-11.43
 <p>B10</p>	-10.96
 <p>B11</p>	-10.48



Ya que los resultados obtenidos mostraron concordancia con los datos de la evaluación biológica al predecir que la actividad entre los compuestos **C1** y **C5** sería inferior a la actividad del compuesto **C6** y considerando que existirá concordancia entre el modelo y la actividad de los compuestos diseñados, se espera que en general los bencimidazoles **B7-B12** presenten mejor actividad que los compuestos analizados inicialmente.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la alta incidencia de tripanosomiosis, el gran número de personas en riesgo de contraer la enfermedad, la aparición de casos en zonas no endémicas, la falta de una vacuna contra el parásito, el escaso número de fármacos disponibles para su tratamiento, la limitada eficacia que estos presentan durante la fase crónica de la enfermedad y los efectos colaterales producidos por su consumo, es necesario el desarrollo de nuevos compuestos que presenten actividad tripanocida. Asimismo, es urgente obtener información básica acerca de las características estructurales requeridas para que un compuesto presente dicha actividad.

Ahora bien, con base en las características estructurales de los compuestos que forman parte de este proyecto pueden plantearse las siguientes preguntas: ¿Qué efecto producirá la ausencia o presencia del grupo nitro en el anillo de tiazol sobre la actividad tripanocida?, la presencia del grupo metilo en la posición 1 del anillo bencimidazólico ¿contribuirá a mejorar la capacidad inhibitoria de la cTIM de este grupo de compuestos?, ¿existirá alguna diferencia en la inhibición de la enzima dependiendo de la posición de los sustituyentes cloro y naftiloxi en los compuestos metilados? En caso de existir, ¿será significativa? El aumento de grupos aromáticos, como el sustituyente naftiloxi, en las estructuras propuestas ¿tendrá efecto significativo en la inhibición de la cTIM comparado con los análogos sin naftiloxi?

5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5.1. Hipótesis

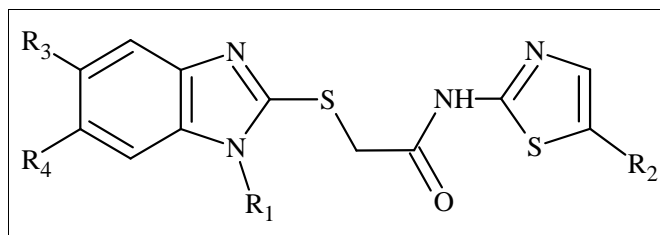
Los compuestos híbridos derivados de los núcleos de bencimidazol y tiazol, por sus características estructurales serán inhibidores de la Triosafosfato isomerasa de *T. cruzi*. Se espera también que la ausencia del grupo nitro disminuirá la capacidad inhibitoria de estos compuestos sobre la cTIM, pero los compuestos seguirán siendo activos. Asimismo, de acuerdo con los resultados obtenidos del Docking molecular entre estos compuestos y la cTIM, se espera que la presencia del grupo metilo en posición 1 incremente la estabilidad del complejo compuesto-enzima y de esta manera se observe un aumento en la actividad respecto a sus análogos no metilados. Además, se espera que el compuesto **B12** presente la mayor actividad inhibitoria de la cTIM, ya que según los cálculos de docking realizados, este compuesto formará un complejo más estable con dicha enzima. El grupo naftiloxi aumentará el poder inhibitorio de estos compuestos, comparados con sus análogos anteriormente probados que no poseen en su estructura un sustituyente de este tipo. En conjunto, todos los compuestos por sus características estructurales, tendrán una actividad superior a la de otros bencimidazoles probados como inhibidores de la cTIM.

5.2. Objetivo general

Sintetizar y evaluar el potencial tripanocida de tres derivados híbridos del bencimidazol y del 5-nitrotiazol y sus correspondientes análogos no nitrados, unidos mediante un enlace tipo 2-tioacetamida en la posición 2 del anillo bencimidazólico.

5.3. Objetivos particulares

- Sintetizar y purificar los siguientes compuestos híbridos derivados del bencimidazol y el tiazol.



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
B7	H	H	α-naftoxi	Cl
B8	H	NO ₂	α-naftoxi	Cl
B9	CH ₃	H	α-naftoxi	Cl
B10	CH ₃	H	Cl	α-naftoxi
B11	CH ₃	NO ₂	α-naftoxi	Cl
B12	CH ₃	NO ₂	Cl	α-naftoxi

Tabla 5.1. Compuestos híbridos derivados de los núcleos de bencimidazol y tiazol.

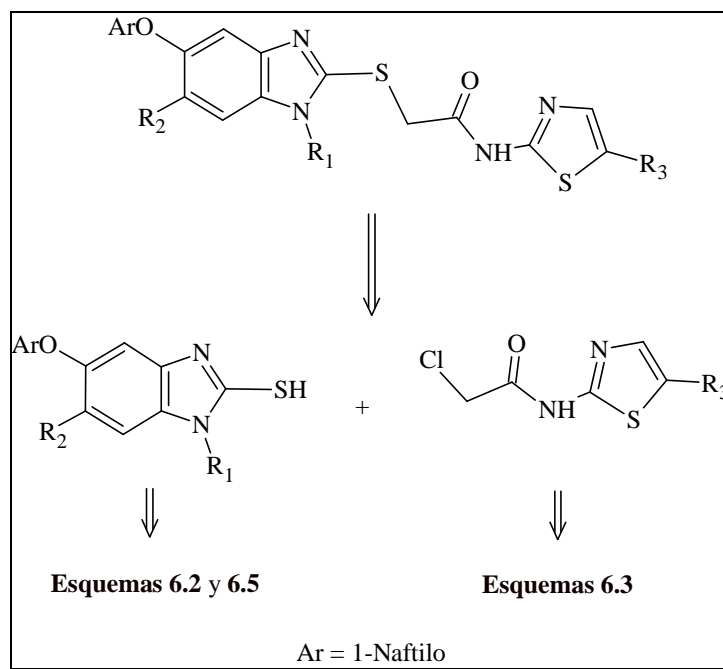
- Determinar las constantes físicas y caracterizar estructuralmente los compuestos sintetizados, mediante el uso de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- Evaluar la actividad tripanocida de los compuestos híbridos mediante un ensayo enzimático con la TIM de *T. cruzi*.
- Establecer la importancia de la presencia o ausencia del grupo metilo en posición 1 del bencimidazol y del grupo nitro en la posición 5 del tiazol, sobre la actividad biológica.
- Determinar la influencia y posición de los sustituyentes cloro y naftiloxi en el núcleo bencimidazólico sobre la actividad tripanocida.
- Determinar si los datos obtenidos del Docking predicen adecuadamente los resultados de inhibición de la cTIM de este grupo de compuestos.
- Enriquecer la base de datos de compuestos antiparasitarios derivados del bencimidazol, con el fin de establecer posteriormente una relación estructura-actividad acertada.

6. METODOLOGÍA

Esta parte comprende una breve descripción de la síntesis de los compuestos diseñados derivados del bencimidazol. Además, incluye la descripción de la metodología realizada en la Universidad Juárez del Estado de Durango, para la evaluación del efecto inhibitor de los compuestos sintetizados sobre la enzima Triosafosfato Isomerasa de *Trypanosoma cruzi*.

6.1. Parte química

El análisis retrosintético de las 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamidas que conforman este proyecto se presenta en el **Esquema 6.1** y las rutas sintéticas para su obtención se analizan en el siguiente apartado.



Esquema 6.1. Análisis retrosintético de la formación de las 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamidas sustituidas.

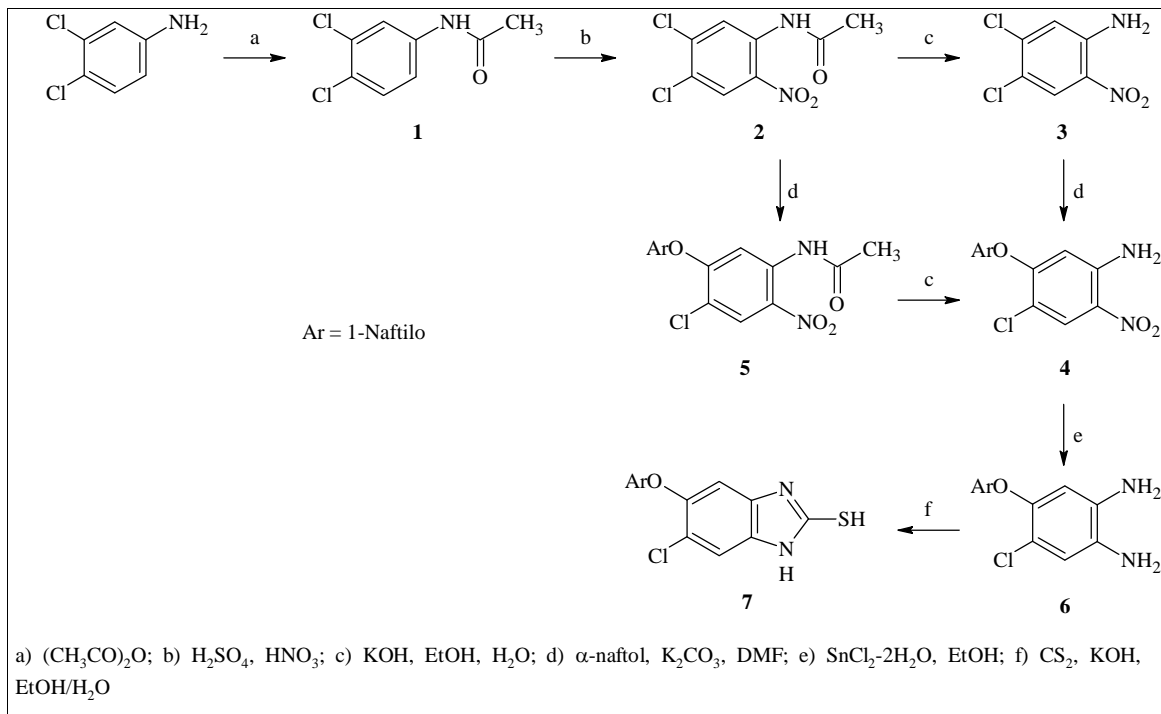
6.1.1. Síntesis de las 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamidas B7 y B8

Para la síntesis de estos compuestos se prepararon inicialmente los precursores **7**, **8** y **9**; para lo cual se siguieron las rutas sintéticas mostradas en los **Esquemas 6.2** y **6.3**. Una vez obtenidos dichos precursores, se procedió a la preparación de los compuestos híbridos de la forma indicada en el **Esquema 6.4**.

Para la obtención del tiol precursor **7**, la secuencia se inició a partir de la 3,4-dicloroanilina que se hizo reaccionar con anhídrido acético y se obtuvo la *N*-(3,4-diclorofenil)acetamida (**1**).⁵⁷ A continuación, el compuesto **1** se sometió a una nitración con mezcla sulfonítrica para obtener la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (**2**).⁵⁷ La hidrólisis alcalina de **2** produjo la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (**3**).⁵⁷ que se sometió a una reacción de sustitución nucleofílica aromática con α -naftol, obteniéndose de esta manera la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**).⁵⁷ El éter **4** también se preparó a partir de la nitroacetamida **2** que se

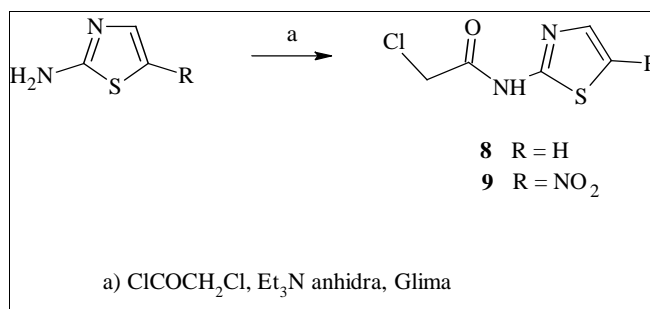
sometió directamente a la reacción de sustitución nucleofílica con α -naftol lo que dio lugar a la formación de la *N*-[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (**5**). El compuesto **5** se sometió a una hidrólisis alcalina y se obtuvo así el compuesto **4**.

El compuesto **4** fue sometido a una reducción química con $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, obteniéndose la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-1,2-fenilendiamina (**6**).⁵⁷ Enseguida se realizó la ciclación de **6**, utilizando disulfuro de carbono y KOH etanólica acuosa, con lo cual se obtuvo el 5-cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol (**7**)^{48,57} (**Esquema 6.2**)



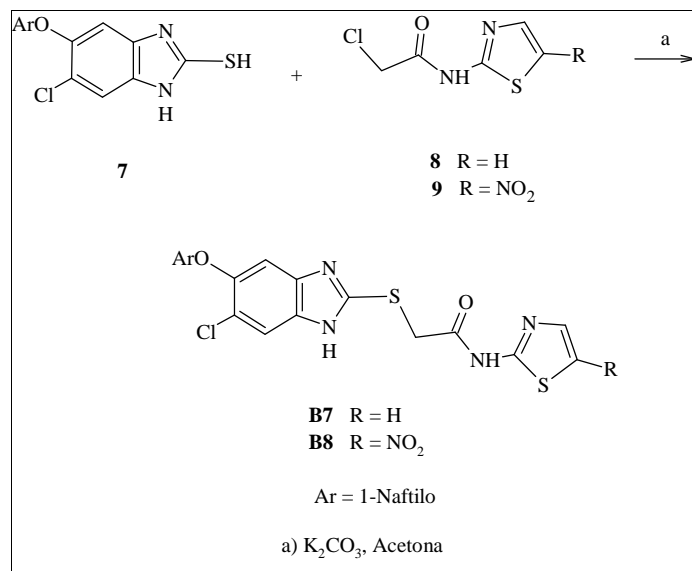
Esquema 6.2. Secuencia sintética para la obtención del precursor **7**.

Por otro lado, se llevaron a cabo por separado las reacciones del 2-aminotiazol y 2-amino-5-nitrotiazol, por separado, con cloruro de cloroacetilo en presencia de trietilamina anhidra y glima como disolvente para obtener los precursores 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**8**) y 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9**), respectivamente^{48,58-59} (**Esquema 6.3**).



Esquema 6.3. Secuencia sintética para la obtención de las 2-cloroacetamidas precursoras **8** y **9**.

Finalmente, se realizó el acoplamiento de los compuestos **7** y **8** para obtener la 2-{{[6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-benzimidazol-2-il]tio}-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B7**) y de los compuestos **7** y **9** para obtener la 2-{{[6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-benzimidazol-2-il]tio}-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**B8**). Ambas reacciones se llevaron a cabo en acetona y con carbonato de potasio como base y acetona como disolvente^{48,58-60} (**Esquema 6.4**).

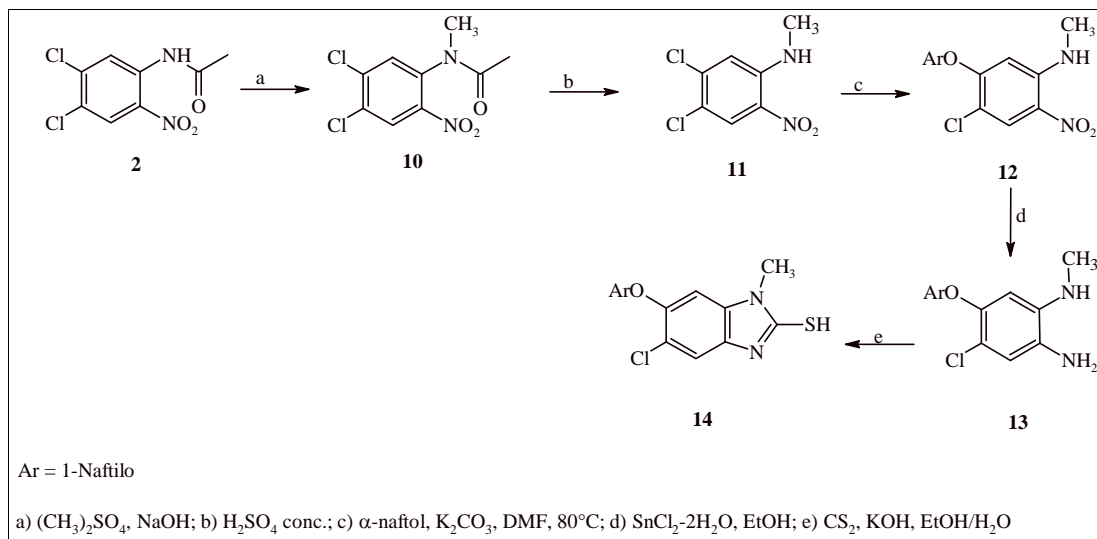


Esquema 6.4. Secuencia sintética para la obtención de los compuestos híbridos **B7** y **B8**.

6.1.2. Síntesis de las 2-tioacetamidas **B10** y **B12**

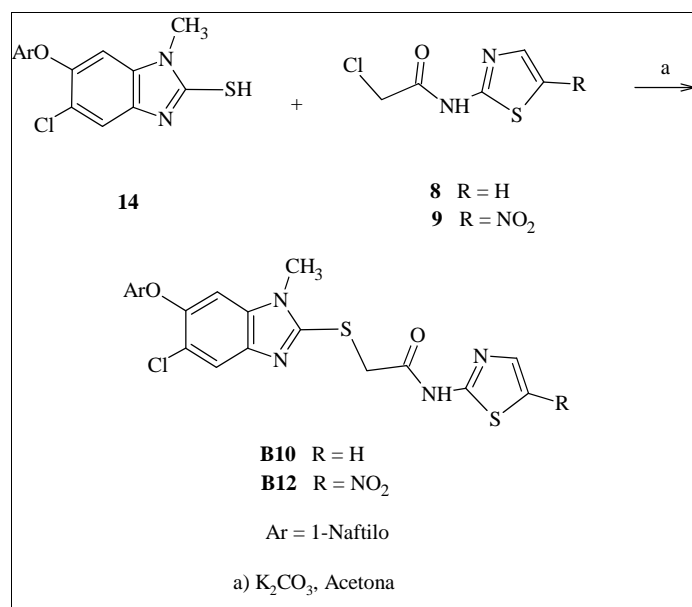
Para la obtención de estos compuestos se preparó primero el tiol precursor **14** como lo indica el **Esquema 6.5** y una vez obtenido éste, se prepararon los compuestos híbridos de la forma indicada en el **Esquema 6.6**.

La síntesis del compuesto **14** se inició a partir de la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (**2**) que se hizo reaccionar con sulfato de dimetilo en medio alcalino para dar la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**10**).⁶¹⁻⁶² El compuesto **10** se sometió a hidrólisis con ácido sulfúrico, obteniéndose así la 4,5-dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina (**11**).⁶¹⁻⁶³ Posteriormente se realizó la reacción de sustitución nucleofílica aromática de **11** con α -naftol para obtener la 4-cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**12**).⁶² El compuesto **12** se sometió a una reducción química con SnCl₂·2H₂O en etanol y se obtuvo así la 4-cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (**13**)⁶² que por ciclación con disulfuro de carbono y KOH etanólica acuosa dió el 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-benzimidazol (**14**)⁶² (**Esquema 6.5**).



Esquema 6.5. Secuencia sintética para la obtención del precursor **14**.

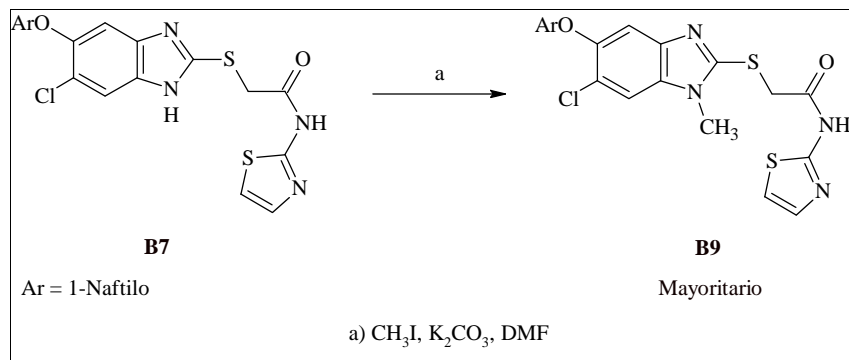
El compuesto **14** fue acoplado por separado a los compuestos **8** y **9**, según lo descrito en párrafos anteriores; obteniéndose así los compuestos finales 2-[[5-cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B10**) y 2-[[5-cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**B12**)^{48,58-60} (**Esquema 6.6**).



Esquema 6.6. Secuencia sintética para la obtención de los compuestos híbridos **B10** y **B12**.

6.1.3. Obtención de la 2-tioacetamida B9

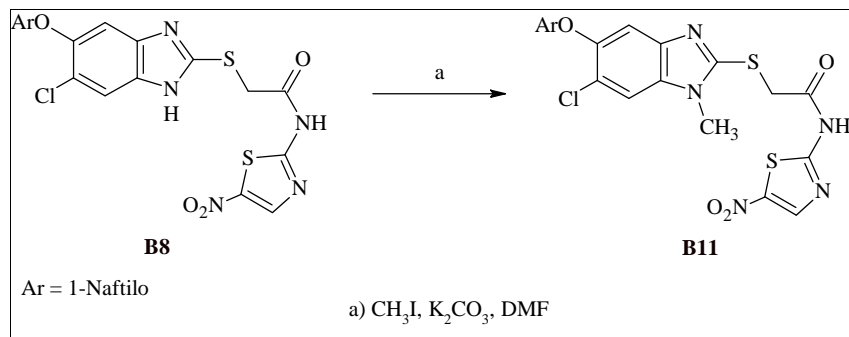
La síntesis del compuesto 2-{[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio}-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B9**) se realizó por metilación con yoduro de metilo y carbonato de potasio, del compuesto **B7**, como se indica en el **Esquema 6.7**.



Esquema 6.7. Secuencia sintética para la obtención del compuesto híbrido **B9**.

6.1.4. Obtención de la 2-tioacetamida B11

De manera semejante a la preparación de **B9**, se trató de metilar el compuesto **B8** utilizando yoduro de metilo y carbonato de potasio, como se indica en el **Esquema 6.8**, sin embargo los diferentes intentos solo llevaron a la obtención de mezclas de reacción resinosas.



Esquema 6.8. Secuencia sintética para la obtención del compuesto híbrido **B11**.

6.2. Parte biológica

Esta parte fue realizada por el equipo de trabajo del Dr. Alfredo Téllez Valencia, en la Universidad Juárez del Estado de Durango y consistió en la evaluación de los derivados bencimidazólicos **B7**, **B8**, **B9**, **B10** y **B12**, como inhibidores de la enzima TIM del protozoario *T. cruzi*.

6.2.1. Prueba de inhibición de la Triosafosfato Isomerasa (TIM)

Se empleó el método de cuantificación de NADH, previamente estandarizado. Se incubó la Triosafosfato isomerasa a una concentración de 5 µg/mL en 1 mL de **Medio 1**^a por dos horas a 36°C. Como control negativo se empleó la TIM en medio libre de inhibidores.³¹

Después de la incubación se tomó una muestra de 1 µL de la solución anterior y se adicionó a 800 µL del medio de reacción para ensayo de actividad (**Medio 2**^b). Se cuantificó la

disminución de absorbancia en la celda de reacción a 340 nm en un espectrofotómetro marca Hewlett-Packard equipado con termostato a 25°C. Finalmente, se calculó el porcentaje de inhibición en comparación con el control.³¹

^a **Medio 1.** Trietanolamina 100 mM, EDTA 10 mM, 100 µg del compuesto a evaluar, DMSO al 30%, pH=7.4.

^b **Medio 2.** Trietanolamina 100 mM, EDTA 10 mM, NADH 0.2 mM, Gliceraldehído-3-fosfato 1 mM y 0.9 unidades de α -glicerol fosfato deshidrogenasa, pH = 7.4.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Parte química

7.1.1. Constantes físicas

Las constantes físicas y los rendimientos obtenidos para los compuestos finales sintetizados se muestran en la **Tabla 11.1** y los resultados obtenidos para los intermediarios restantes se muestran en la **Tabla 11.2** del apéndice.

7.1.2. Síntesis química

La preparación de las 2-tioacetamidas **B7-B10** y **B12** se llevó a cabo mediante una síntesis convergente en donde fue necesario preparar los tioles precursores **7** y **14** y por separado las 2-cloroacetamidas **8** y **9**; como se describe a continuación.

7.1.2.1. Obtención de los precursores **7**, **8** y **9** (Esquemas 6.2 y 6.3)

a) Síntesis del 5-cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol (**7**)

La preparación del tiol **7** se inició a partir de la 3,4-dicloroanilina, que se trató con anhídrido acético con el fin de disminuir la reactividad del anillo de benceno y evitar así reacciones secundarias en los pasos sintéticos posteriores. Debido a que el anhídrido acético se utilizó en exceso, no se empleó ningún disolvente en la reacción, lo que facilitó el aislamiento de la *N*-(3,4-diclorofenil)acetamida (**1**), que se obtuvo con un rendimiento crudo del 98.6%.

Posteriormente se realizó la nitración de **1**, disolviendo éste en H₂SO₄ concentrado a una temperatura entre 10-15 °C. La solución ámbar obtenida se enfrió en un baño de hielo-sal granular a 0 °C y se inició la adición de HNO₃ concentrado para formar el ión nitronio *in situ*. El enfriamiento de la mezcla de reacción favoreció la formación de un producto de nitración mayoritario, obteniéndose la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (**2**) con un rendimiento crudo del 91%. Sin embargo, el compuesto **2** crudo se obtuvo contaminado con una impureza de mayor R_f, debida a la formación de un producto secundario que se eliminó mediante la recristalización del sólido crudo por par de disolventes metanol-agua. La presencia de dicho subproducto disminuyó el rendimiento final a 61%.

La hidrólisis del grupo acetilo se llevó a cabo en condiciones alcalinas utilizando hidróxido de potasio en etanol, a la temperatura de reflujo. La reacción procedió en menos de media hora y se obtuvo la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (**3**), con un rendimiento del 98% y sin la presencia de productos secundarios.

La estructura de estos compuestos se confirmó en los análisis espectroscópicos y espectrométricos, cuyos resultados coincidieron con los informados en la literatura.⁵⁷

El siguiente paso fue la reacción de sustitución nucleofílica aromática para introducir al grupo naftiloxi, la cual se realizó con α -naftol en presencia de K₂CO₃ como base y DMF como disolvente. Esta reacción se llevó a cabo a una temperatura entre 110-113 °C. Además de la formación de la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**) se observó mediante ccf, la presencia de tres impurezas que fueron difíciles de eliminar y cuya presencia abatió el rendimiento de la reacción a 71%.

El cambio estructural se confirmó en el espectro de IR donde se presentaron dos bandas a 3464 y 3344 cm^{-1} correspondientes a la vibración N-H de la amina y mediante espectrometría de masas, donde se observó el ión m/z 314 (88%), que concordó con la masa molecular esperada. Asimismo, se observaron en el espectro de RMN ^1H , una señal amplia intercambiable con D_2O a 7.41 ppm que integró para 2H, asignable a los protones del grupo amino, las señales características de los hidrógenos del sistema naftalénico (**Figura 7.1**) y dos señales simples a 8.17 y 6.21 ppm correspondientes a los protones bencénicos.

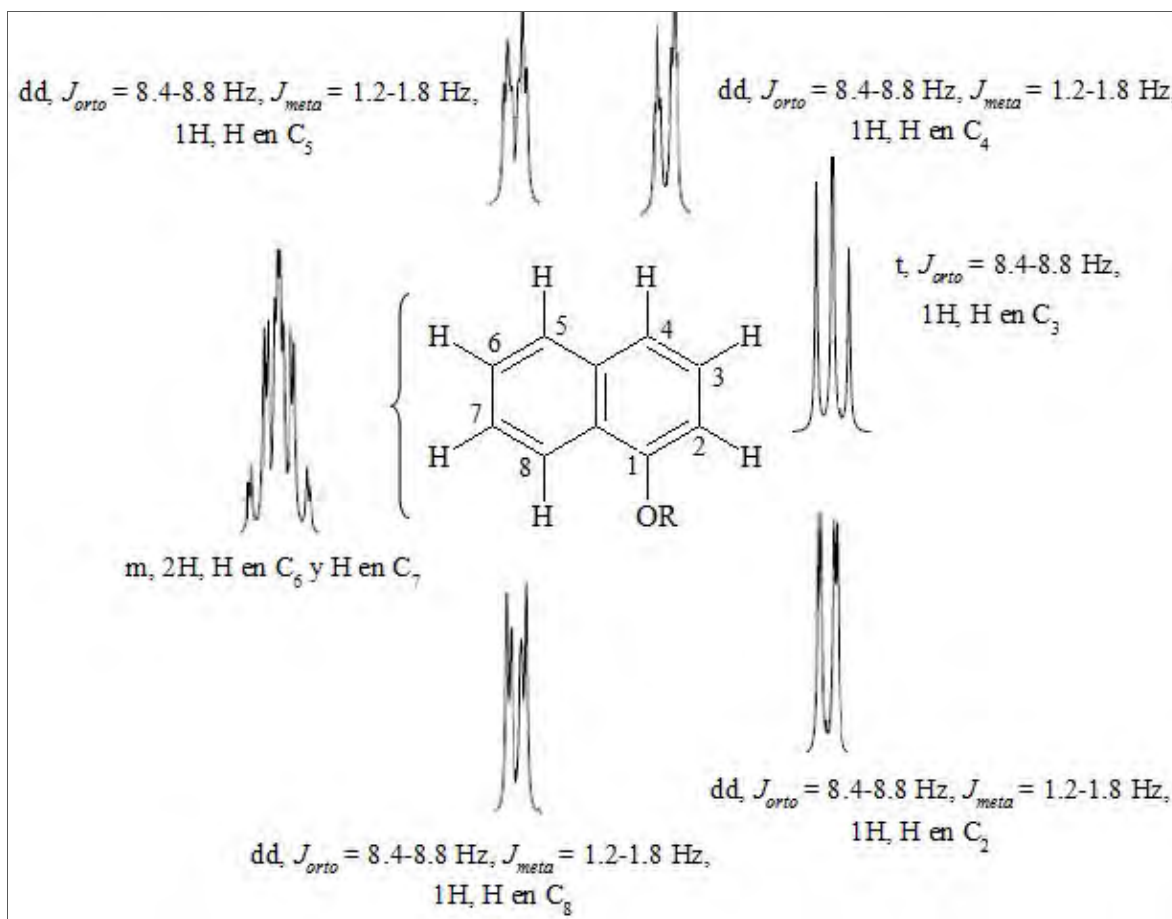


Figura 7.1. Sistema de sustitución del anillo naftaleno y rango dentro del que se encuentran sus constantes de acoplamiento.

Debido a que en la reacción anterior el rendimiento fue bajo y hubo presencia de tres productos secundarios, se modificó la ruta sintética realizando la sustitución nucleofílica aromática sobre la acetamida **2** como materia prima. La reacción se llevó a cabo a menor temperatura (85-90 $^{\circ}\text{C}$) y se completó en un lapso de 2.5 horas, casi la mitad del tiempo que la reacción anterior. Se obtuvo así la *N*-[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (**5**) sin la presencia de productos de reacción secundarios y con un rendimiento crudo del 91%.

La formación de dicho compuesto se confirmó en el espectro de IR, donde se observaron bandas a 3344 cm^{-1} y 1720 cm^{-1} correspondiente a la acetamida. Además, la espectrometría de masas mostró el pico correspondiente al ión m/z 356 (100%) concordante con la masa

molecular calculada y el espectro de RMN ^1H mostró una señal simple a 2.48 ppm con integración para 3H correspondiente al metilo de la acetamida, una señal amplia intercambiable con D_2O a 10.18 ppm que integró para 1H asignable al protón de la amida y las señales correspondientes a los protones naftalénicos indicados en la **Figura 7.1**.

El siguiente paso fue la desprotección del grupo amino de **5** por medio de una hidrólisis alcalina con KOH etanólica acuosa a una temperatura entre 45-50 °C. Se obtuvo así la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**), con un rendimiento del 98% y sin presencia de productos secundarios.

La formación del compuesto **4** se confirmó en los espectros de IR, espectrometría de masas y RMN ^1H , cuyos datos fueron idénticos a los del compuesto obtenido de la sustitución nucleofílica a partir de la 2-nitroanilina (**3**).

A continuación se muestra una tabla comparativa de las dos rutas seguidas para la obtención de **4** (**Tabla 7.1**).

Tabla 7.1. Comparación de las alternativas de síntesis de la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**)

Reacción	Condiciones de reacción	Rendimiento crudo (%)	Rendimiento recristalizado (%)
a	KOH, EtOH, H ₂ O 80 °C, 25 min	97.7	90.6
b	α -naftol, K ₂ CO ₃ , DMF 110-113 °C, 4 horas	70.7	44.0
c	α -naftol, K ₂ CO ₃ , DMF 85-90 °C, 2.5 horas	91.1	87.4
d	KOH, EtOH, H ₂ O 45-50 °C, 30 min	98.2	90.3

Como puede observarse en la tabla anterior, las condiciones de reacción tanto para la hidrólisis como para la sustitución nucleofílica aromática son más suaves en la ruta sintética alternativa y también se mejoraron los rendimientos de la reacción y de la recristalización al disminuir el número de impurezas formadas. Por lo tanto se utilizó el segundo método para el escalamiento de la obtención de la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**).

Posteriormente se realizó la reducción química con $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ del grupo nitro del compuesto **4**, para formar la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (**6**). La reacción procedió rápidamente y no se observó formación de productos de reacción secundarios obteniéndose **6** con un rendimiento de 90% el cual debido a su inestabilidad, se utilizó crudo en la reacción de ciclocondensación siguiente.

Para la obtención del precursor 5-cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol (**7**), se llevó a cabo la ciclocondensación de **6** mediante la formación *in situ* del xantato de etilo, adicionando disulfuro de carbono y KOH etanólica acuosa, y posterior calentamiento moderado. La reacción procedió de forma rápida, obteniéndose **7** con un rendimiento del 80%. Cabe resaltar que la formación de este compuesto se favoreció al incrementar a 1.5 equivalentes el disulfuro de carbono y la potasa adicionados, manteniendo la proporción soluto-disolvente 1:10 y la temperatura cercana a 65 °C. La formación de este compuesto se confirmó al concordar los datos de espectrometría y espectroscopia con los informados en la literatura (Tabla 11.4).⁵⁷

b) Síntesis de la 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (8**) y de la 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9**)**

Para la obtención de los compuestos **8** y **9** se hicieron reaccionar por separado el 2-aminotiazol y el 2-amino-5-nitrotiazol con cloruro de cloroacetilo, utilizando glicina como disolvente en presencia de trietilamina. Estas reacciones se realizaron en baño de hielo y la formación de los productos fue rápida y eficiente, al obtenerse la 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**8**) con un rendimiento del 70% y la 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9**) con un rendimiento del 86%.

La formación de los compuestos **8** y **9** se corroboró en los espectros de IR, donde se observaron bandas a 1703 cm^{-1} y 1694 cm^{-1} , respectivamente, correspondientes a los grupos carbonilo de las amidas formadas. La espectrometría de masas del derivado no nitrado mostró el pico correspondiente al ión m/z 177 (45%) concordante con la masa molecular calculada para el compuesto **8**, mientras que el espectro correspondiente a su análogo nitrado mostró el ión con m/z 221 (34%), que concordó con la masa molecular calculada para el compuesto **9**. Además se observó el fragmento $\text{M}^+ - 76$ correspondiente a la pérdida del grupo cloroacetilo que apareció en ambos espectros. Por otro lado, en el espectro de RMN ^1H del compuesto **8** se observó una señal simple a 4.45 ppm que integró para 2H asignable al grupo metileno y la presencia de una señal amplia intercambiable con D_2O a 11.37 ppm, con integración para 1H, correspondiente al protón de la amida. En el caso del compuesto **9** la señal correspondiente al grupo metileno apareció a 4.57 ppm y la señal intercambiable con D_2O debida al protón de la amida a 11.47 ppm.

7.1.2.2. Obtención de las 2-tioacetamidas finales **B7** y **B8**

La obtención de la 2-{{[6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio}-*N*-1,3-tiazol-2-il}acetamida (**B7**) se realizó por la reacción entre el tiol precursor (**7**) y la cloroacetamida (**8**) con K₂CO₃ como base y utilizando acetona como disolvente. El uso de la base permite abstraer el protón ácido del tiol incrementando así la nucleofilia del átomo de azufre. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y se obtuvo el compuesto **B7** crudo con un buen rendimiento (91%). No obstante, el producto presentó una impureza de menor *R_f* que fue difícil de eliminar, debido principalmente a la baja solubilidad del compuesto y a su sensibilidad a temperaturas superiores a 40 °C, por lo que no fue posible purificarlo mediante recristalización. Por tal motivo se intentó purificarlo con carbón activado a temperatura ambiente; pero se utilizó una gran cantidad de disolvente y no se consiguió eliminar la impureza contaminante. Se decidió entonces purificar **B7** mediante cromatografía en columna utilizando acetato de etilo como eluyente, pero aparentemente parte del compuesto se quedó adsorbido en la gel de sílice, ya que el rendimiento final se abatió hasta el 56%.

La estructura de **B7** se confirmó por espectroscopia de IR en donde el espectro mostró la presencia de una señal a 1686 cm⁻¹ característica del grupo carbonilo correspondiente a la amida. Por otra parte, el espectro de masas generado por la técnica de FAB, modalidad positiva, presentó el ión *quasimolecular* [M+1]⁺ en una relación *m/z* 467 (100%), que concuerda con la masa molecular esperada para este compuesto y el ión con relación *m/z* 469 (48%) correspondiente a la contribución isotópica del átomo de cloro. Las señales que presentó el espectro de RMN ¹H confirmaron la estructura de **B7** al presentarse una señal simple a 4.36 ppm que integró para 2H correspondientes al grupo metileno (-S-CH₂-CO-). Además se observó la presencia de una serie de señales entre 6.62 y 7.70 con integración para 9 protones cuyo desplazamiento químico y patrón de sustitución correspondió a los hidrógenos bencimidazólicos y naftalénicos. Por otro lado, para confirmar que la sustitución se llevó a cabo en el azufre y no en el nitrógeno del bencimidazol se realizó un experimento NOESY, en el que no se observó interacción entre los protones del grupo metileno a 4.36 ppm y los hidrógenos aromáticos correspondientes al anillo bencimidazólico (a 7.25 y 7.70 ppm), lo cual corroboró que la sustitución se llevó a cabo en el átomo de azufre.

La síntesis de la 2-{{[6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio}-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)}acetamida (**B8**) se realizó de manera similar a **B7**, por una reacción entre la 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9**) y el 5-cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol (**7**), en acetona y utilizando K₂CO₃ como base. El producto se obtuvo con un rendimiento crudo del 85%, aunque presentó una impureza en el origen que fue difícil de eliminar por recristalización debido a su termolabilidad, su susceptibilidad a disolventes próticos y su pobre solubilidad. Por lo tanto su purificación se realizó mediante cromatografía en columna.

La estructura de este compuesto se confirmó por espectroscopía de IR donde se observó una banda a 1708 cm⁻¹ correspondiente al grupo carbonilo de la amida. Por otra parte, el espectro de masas generado por la técnica de FAB, modalidad positiva, presentó el ión *quasimolecular* [M+1]⁺ en una relación *m/z* 512 (21%), que concordó con la masa

molecular esperada y el ión con m/z 514 (9%) correspondiente a la contribución isotópica del átomo de cloro. Por otro lado su espectro de RMN ^1H , muestra una señal simple a 4.45 que integró para 2H asignable al grupo metileno ($-\text{S}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CO}-$), así como señales entre 6.62 y 8.24 ppm, que debido a su desplazamiento químico, constantes de acoplamiento e integración, fueron asignadas a los protones aromáticos del bencimidazol y del naftaleno. También presenta una señal simple a 8.62 ppm correspondiente al protón del anillo tiazólico. En el experimento NOESY no se observó interacción entre los protones del grupo metileno (a 4.45 ppm) y los protones aromáticos del bencimidazol (a 7.25 y 7.70 ppm), por lo que se concluyó que la unión se llevó a cabo en el azufre como se esperaba.

7.1.2.3. Obtención del precursor 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)bencimidazol (14)

El tiol **14**, precursor de los compuestos **B10** y **B12** se preparó partiendo de la nitroacetamida **2** que se metiló en el nitrógeno de la amida con sulfato de dimetilo en presencia de NaOH, con lo que se obtuvo la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**10**). La reacción procedió rápidamente y se obtuvo el compuesto **10** con un rendimiento del 90%. Cabe mencionar que la formación de este compuesto se favoreció al mantener con agitación vigorosa la mezcla de reacción en todo momento, así como controlando la adición de la solución de NaOH, de forma que la temperatura de la reacción oscilara entre 30-35 °C, ya que de otra manera se favorece la formación de productos secundarios.

Posteriormente, la hidrólisis ácida del compuesto **10** con H_2SO_4 concentrado dió la 4,5-dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina (**11**) con un rendimiento del 97%. El compuesto obtenido presentó una impureza de mayor R_f que se eliminó por recristalización con EtOH y decoloración con carbón activado, siendo el rendimiento final del 76%.

La sustitución nucleofílica aromática con α -naftol del compuesto anterior permitió la obtención de la 4-cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**12**). La formación del producto fue eficiente y se obtuvo **12** con un rendimiento del 90% y sin presencia de productos secundarios.

Es importante mencionar que debido a los resultados obtenidos de la sustitución nucleofílica aromática con α -naftol de los compuestos **2** y **3**, se realizó la misma reacción a partir del compuesto **10**, pero en este caso se formó una resina que por análisis de ccf mostró la presencia de un producto secundario con mayor R_f , que se encontraba en una proporción similar al producto principal. Por lo tanto, se utilizó el primer método para el escalamiento de la obtención de la 4-cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**12**).

La reducción del grupo nitro del compuesto **12** se realizó utilizando $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, con lo que se obtuvo la 4-cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)fenil-1,2-diamina (**13**) con un 90% de rendimiento. En este caso la reacción procedió rápidamente aunque debido a su inestabilidad, se utilizó crudo en la reacción de ciclocondensación siguiente.

Para la obtención del 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)bencimidazol (**14**), se llevó a cabo la ciclocondensación de **13** mediante la formación *in situ* del xantato de etilo, con disulfuro de carbono y KOH etanólica acuosa. La reacción procedió rápidamente y **14** se

obtuvo con un rendimiento del 85%. Cabe resaltar que también en este caso (al igual que para el tiol **7**), la reacción de ciclocondensación se ve favorecida al incrementar a 1.5 equivalentes el disulfuro de carbono y de KOH adicionados, manteniendo la proporción soluto-disolvente 1:10 y la temperatura cercana a 65 °C.

La formación de estos compuestos se confirmó en los espectros de IR, EM y RMN ¹H, que correspondieron con lo informado en la literatura,⁶¹⁻⁶² y cuyos resultados se muestran en la **Tabla 11.4**.

7.1.2.4. Obtención de las 2-tioacetamidas finales **B10** y **B12**

Para la obtención de **B10**, el compuesto 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)-bencimidazol (**14**) se hizo reaccionar con la 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**8**), utilizando K₂CO₃ como base y acetona como disolvente, siguiendo el mismo método empleado para la obtención de los compuestos finales **B7** y **B8**. La reacción concluyó en un lapso de 24 horas, con un rendimiento del 76%. Al igual que su análogo no metilado, el compuesto presentó problemas de termolabilidad y por lo tanto su recristalización no fue posible. Sin embargo, el producto de la reacción presentó sólo una impureza muy polar que se eliminó disolviendo el producto en DMF en frío y decolorándolo con carbón activado.

El cambio estructural se confirmó en el espectro de IR, donde se observaron bandas a 3408 cm⁻¹ y 1692 cm⁻¹ que corroboraron la presencia de la amida secundaria y una señal a 1174 cm⁻¹ debida a la presencia del éter aromático. En el espectro de masas, generado por la técnica de FAB, modalidad positiva, se observó el ión *quasimolecular* [M+1]⁺ en una relación *m/z* 481 (15%) que concordó con la masa molecular calculada para éste compuesto.

Cabe resaltar que el espectro de RMN ¹H de este compuesto presentó duplicidad en algunas de las señales, lo cual es indicativo de que se pueden estar observando un par de rotámeros, cuya velocidad de interconversión es lo suficientemente baja (en las condiciones en las que se determinó el espectro) lo que permite detectarlos mediante esta técnica. Dicho fenómeno es conocido como isomerismo de rotación restringida o atropoisomerismo⁶⁴ y en algunas ocasiones estos atropoisómeros pueden separarse y/o detectarse por rayos X o RMN.⁶⁴

No obstante, se observó en dicho espectro una señal simple a 3.66 ppm que integró para 3H correspondiente al grupo metilo en la posición 1 del bencimidazol y una señal amplia intercambiable con D₂O con integración para un protón a 12.50 ppm asignable al protón de la amida. Se observó también una señal duplicada a 4.41 ppm que integró para 2H correspondiente al grupo metileno (-S-CH₂-CO-) y señales múltiples entre 6.55 y 7.96 ppm que debido a su desplazamiento químico, integración y constantes de acoplamiento, fueron asignadas a los protones del bencimidazol y del naftaleno. Asimismo, el experimento de NOESY realizado a este compuesto (**Figura 7.2**) mostró una interacción entre los protones del grupo metilo del bencimidazol y el metileno, lo que indica la posible orientación de éste último en el compuesto. Se observaron también interacciones entre los protones del metilo y uno de los protones del bencimidazol como se esperaba, además de interacciones con protones del naftaleno.

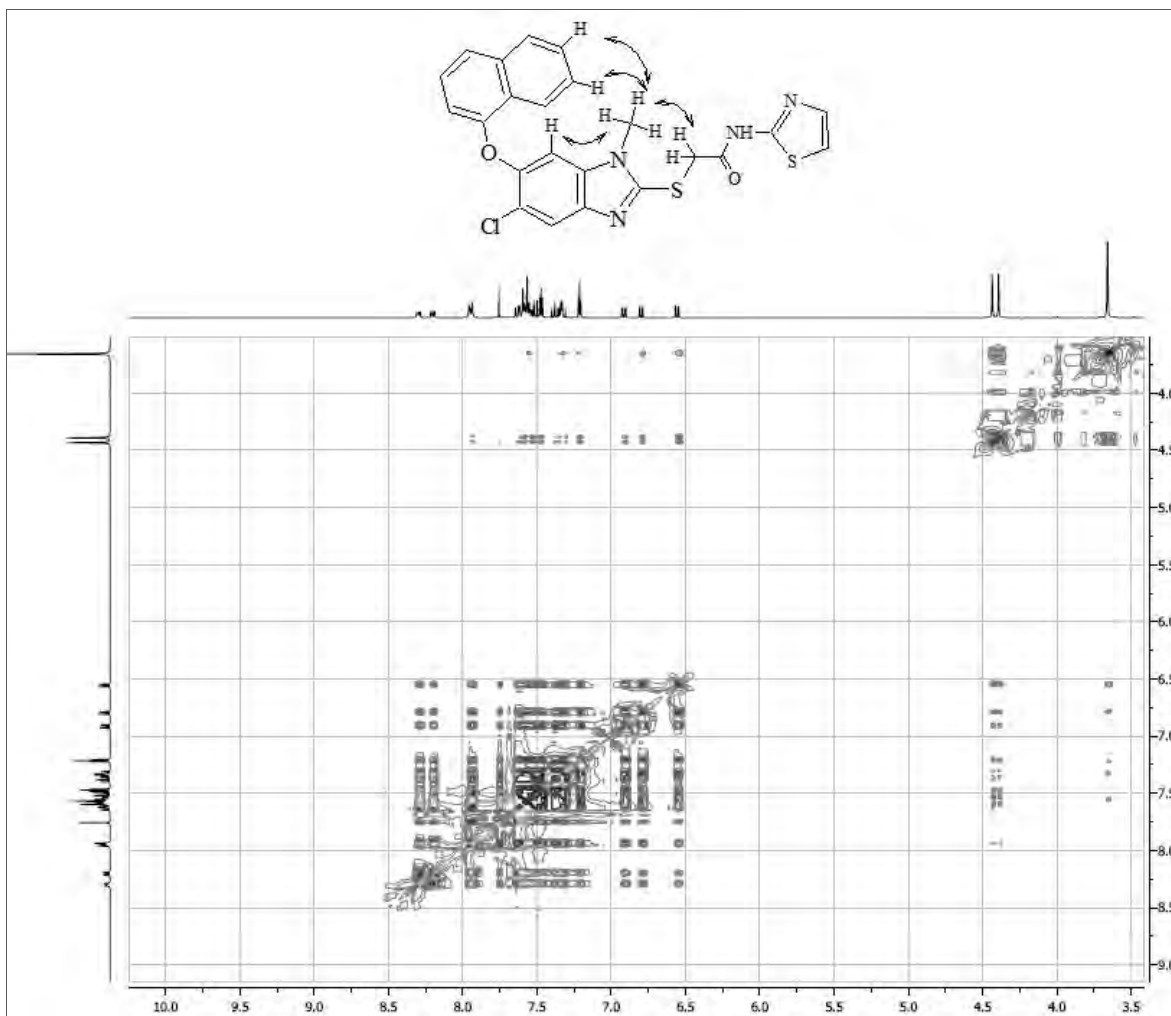


Figura 7.2. Ampliación e interacciones de protones observadas en el experimento de NOESY realizado al compuesto **B10**.

Para la obtención de la 2-tioacetamida **B12** se hicieron reaccionar la 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9**) con el 5-cloro-2-mercapto-1-metil-6-1-(naftiloxi)bencimidazol, con K_2CO_3 como base y con acetona como disolvente. La reacción concluyó en 24 horas y se obtuvo un sólido color ocre. Debido a la termolabilidad y baja solubilidad de este compuesto, su purificación se realizó mediante cromatografía en columna, utilizando acetona como eluyente.

La estructura de este compuesto se confirmó en el espectro de IR, donde se observó una banda en 1700 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo de la amida. Además en el espectro de masas generado por la técnica de FAB, modalidad positiva, se observó el pico correspondiente al ión *quasimolecular* $[M+1]^+$ en una relación m/z 526 (4%) que concordó con la masa molecular calculada para el compuesto **B12**.

Al igual que para el compuesto **B10**, la RMN 1H de este compuesto mostró el fenómeno de atropoisomerismo. Así, es posible observar en este espectro una señal duplicada a 4.49 ppm

con integración para 2H correspondiente al grupo metileno (-S-CH₂-CO-) y una señal a 3.66 ppm que integró para tres protones asignables al grupo metilo en la posición 1 del bencimidazol y una señal duplicada a 8.62 ppm con integración para 1H correspondiente al protón del anillo de tiazol. En el experimento de NOESY realizado para este compuesto, es posible observar interacción entre los protones del anillo naftalénico y un protón del bencimidazol con los hidrógenos del grupo metilo (**Figura 7.3**).

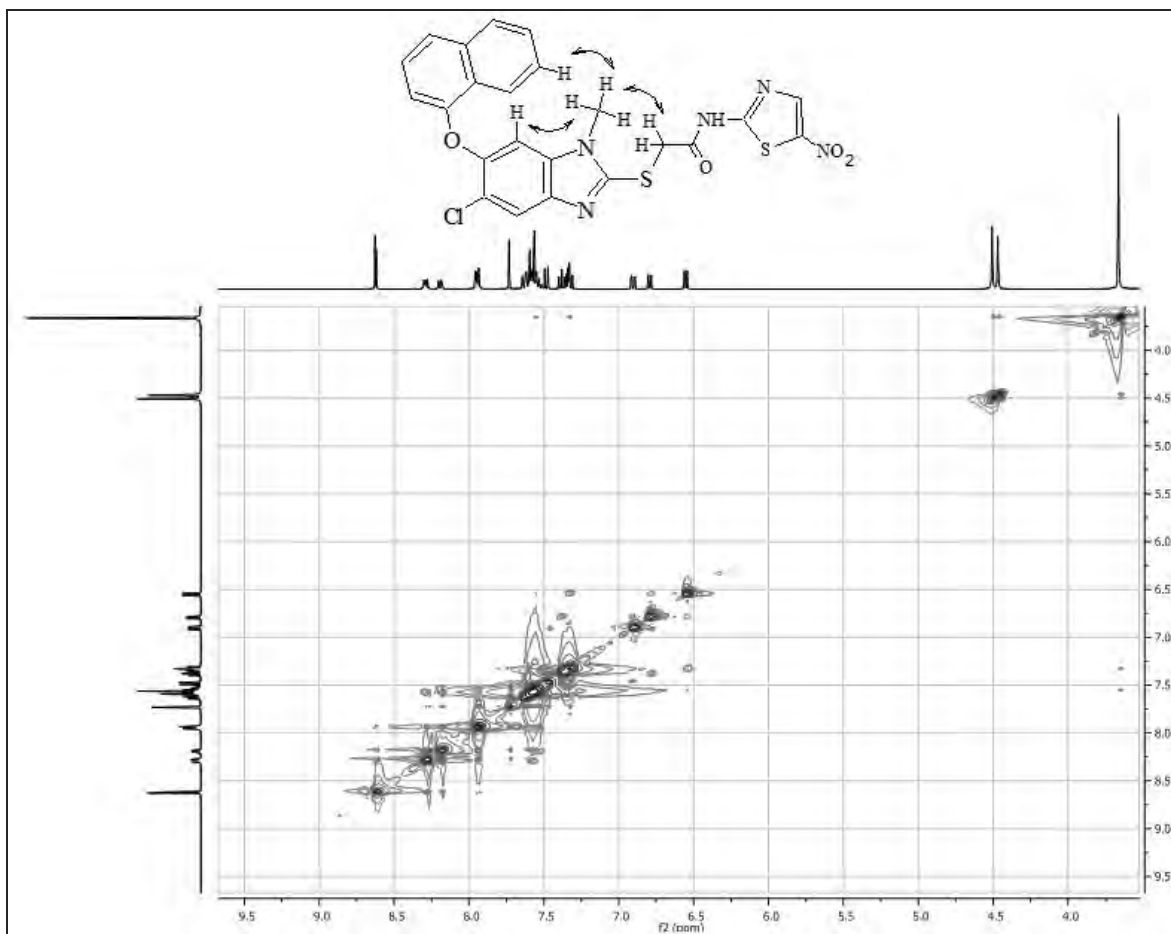


Figura 7.3. Ampliación e interacciones de protones observadas en el experimento de NOESY realizado al compuesto **B12**.

7.1.2.5. Obtención de las 2-tioacetamidas finales **B9** y **B11**

Aunque es conocido que la *N*-monoalquilación de bencimidazoles no simétricos conduce a la obtención de una mezcla de los dos posibles isómeros, para la preparación de **B9** decidimos utilizar esta reacción sobre **B7** ya que disponíamos del isómero **B10** como referencia, lo que en principio permitiría (por eliminación) rastrear su presencia en la mezcla de reacción. Efectivamente, cuando se llevó a cabo la reacción de monometilación sobre **B7** se obtuvo la mezcla esperada de productos (**B9** y **B10**, además de otros subproductos minoritarios) siendo el primero el isómero más abundante y de menor *R_f*.

La separación de los isómeros se realizó por cromatografía en columna utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 50:50 como eluyente y el isómero deseado (**B9**) se comparó

mediante ccf y punto de fusión con el compuesto **B10** resultando diferentes. Por otro lado los datos espectroscópicos y espectrométricos adquiridos corroboraron su estructura isomérica como se indica a continuación.

En el espectro de IR se observa una banda a 1690 cm^{-1} característica del grupo carbonilo de la amida y en el espectro de masas, generado por la técnica de FAB modalidad positiva, presentó el pico correspondiente al ión *quasimolecular* $[M+1]^+$ en una relación m/z 481 (18%) que concuerda con la masa molecular calculada para este compuesto.

En el espectro de RMN ^1H de **B9** no se mostró la presencia del fenómeno de atropoisomerismo, a diferencia de lo observado para el isómero (**B10**). En éste espectro se observaron señales a 3.69 y 4.46 ppm que integraron para 3H y 2H respectivamente, asignables a los grupos metilo y metileno (N-CH_3 y $\text{-S-CH}_2\text{-CO-}$) y también señales entre 6.58 y 8.34 ppm, que por su desplazamiento químico, constantes de acoplamiento e integración fueron asignadas a los protones bencimidazólicos y naftalénicos. Además se observó una señal amplia a 12.52 ppm con integración para 1H, intercambiable con D_2O , correspondiente al protón de la amida. Se realizó también el experimento NOESY (**Figura 7.4**) en el que se observó la interacción entre los protones del metilo y del metileno, así como la interacción del metilo con un hidrógeno del bencimidazol. Cabe resaltar que no se encontró interacción entre los protones del naftaleno y los del metilo, lo cual indica que la alquilación se llevó a cabo en el nitrógeno más alejado de dicho sustituyente.

La formación preferente del isómero **B9** sobre **B10** durante la *N*-metilación de **B7** así como la presencia de atropoisomerismo en **B10** pero no en **B9**, de alguna forma sugieren que el grupo naftalénico a pesar de la distancia, es el causante de dichos efectos. Quizás el grupo naftalénico se encuentra acomodado sobre el sistema bencimidazólico formando un complejo tipo π , lo cual lo acercaría al nitrógeno del bencimidazol más próximo con el consecuente efecto estérico sobre este centro. A este respecto, un análisis cristalográfico de rayos X de **B10** ó **B12** podrían ayudar a aclarar este punto.

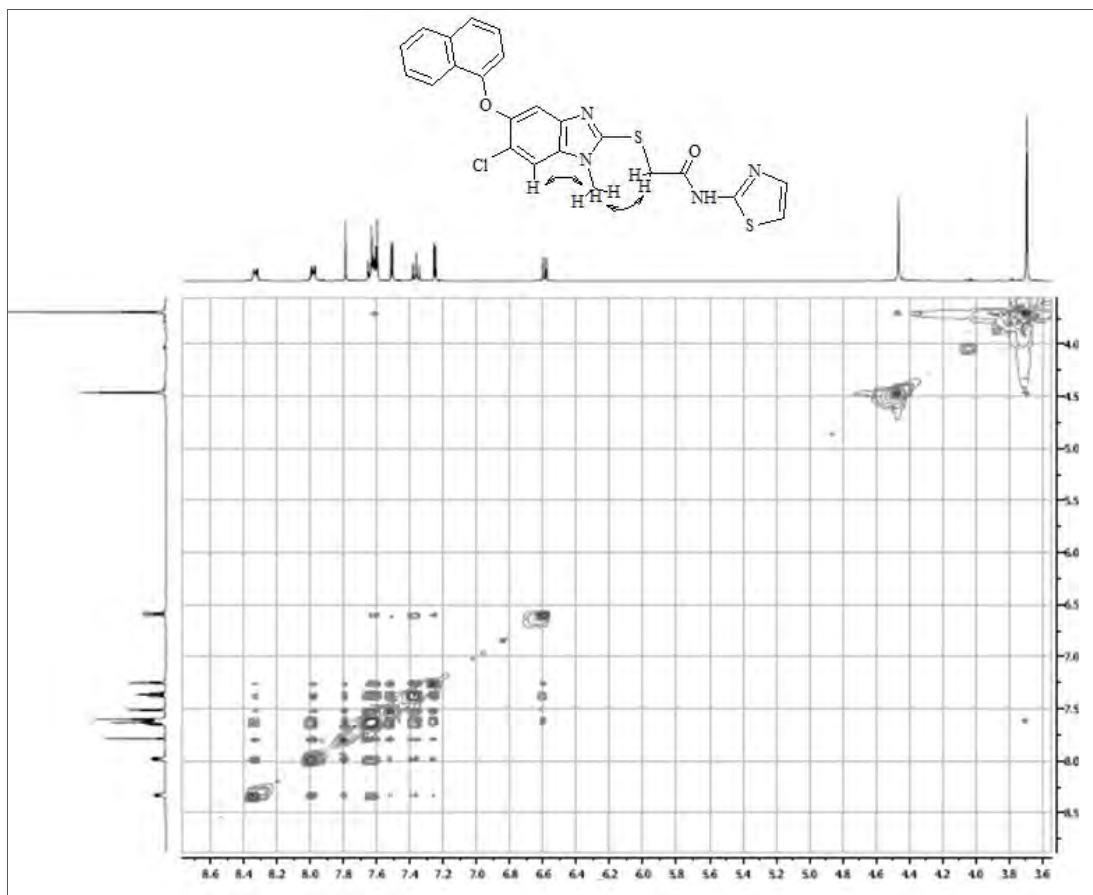


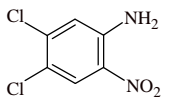
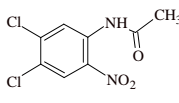
Figura 7.4. Ampliación e interacciones de protones observadas en el experimento de NOESY realizado al compuesto **B9**.

Finalmente, se intentó obtener el compuesto **B11** mediante una reacción de *N*-metilación del compuesto **B8** de manera similar a como se hizo la conversión **B7** → **B9** + **B10**. Sin embargo, se obtuvo una mezcla resinosa que no fue posible separar. Por tal motivo fueron modificadas las condiciones de reacción y se utilizaron distintas bases (K_2CO_3 , KOH y NaH), disolventes (EtOH, Acetona, DMF, CH_3CN , glima) y agentes alquilantes (CH_3I y $(CH_3)_2SO_4$), pero en ninguno de los casos se obtuvo el compuesto esperado debido principalmente a la inestabilidad química del compuesto **B8**, que mostró susceptibilidad a la presencia de cualquier base en el medio de reacción. Por tal motivo, y de ser necesario, para su obtención deberá seguirse una ruta sintética adecuada como se hizo para el caso de los compuestos **B10** y **B12**.

7.1.2.6. Síntesis de los precursores 4 y 5 con ayuda de microondas

Los compuestos 4 y 5 se obtuvieron también mediante las reacciones de sustitución nucleofílica aromática entre el α -naftol y la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (2) y la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (3) respectivamente con ayuda de microondas bajo diferentes condiciones que se resumen en la **Tabla 7.2**.

Tabla 7.2. Mezclas de reacción utilizadas en el ensayo en microondas^a

Precursor	Sustrato (mmol)	K ₂ CO ₃ (mmol)	α -naftol (mmol)	Fase sólida ^b (g)	DMF (mL)	Rendimiento crudo (%)
 <p>3</p>	2.00	2.44	2.25	-	1.5	51
	2.02	-	2.20	1.96	-	-
	2.04	2.34	2.21	2.03	-	-
 <p>2</p>	1.50	1.76	1.77	-	1.5	64
	1.43	-	1.63	1.93	-	-
	1.45	1.62	1.55	1.84	-	-

^a La potencia del equipo de microondas fue de 900 Watts y el tiempo de reacción en todos los casos fue de 24 minutos.

^b La fase sólida utilizada fue alúmina básica.

Los mejores resultados para la obtención de los compuestos 4 y 5 fueron cuando las reacciones se llevaron a cabo en presencia de disolvente, debido probablemente a que en este caso el incremento en la temperatura de reacción aumenta la energía cinética de todas las moléculas presentes (reactantes y disolvente), lo que incrementa la interacción entre las mismas favoreciéndose la ruptura y formación de los enlaces que generan los compuestos esperados.

Cuando las reacciones se llevan a cabo en fase sólida se restringen los movimientos de las moléculas, lo que disminuye la interacción entre los reactantes y por tanto la posibilidad de reacción, de manera que bajo condiciones libres de disolvente no hubo formación significativa de ningún producto.

También se observó que en los experimentos sin K₂CO₃ no hubo formación de producto, mientras que las muestras que contenían dicha base (ambas adsorbidas en alúmina), se formó una pequeña cantidad del producto esperado sin importar el precursor del que se partió (2 ó 3), lo que es indicio de que es indispensable la abstracción del protón ácido del α -naftol para la formación del compuesto esperado.

Finalmente, es importante resaltar que la reacción para obtener el compuesto 4 dio mejores resultados (rendimiento y pureza) cuando la sustitución nucleofílica aromática se hizo entre el compuesto 2 y el α -naftol, seguido de hidrólisis; ya que por la otra vía, empleando la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (3), se obtuvieron varias impurezas que abatieron el rendimiento de la

reacción. Se recordará que el mismo comportamiento se observó en ausencia de radiación de microondas, lo que posiblemente signifique que el problema en esta transformación está en el sustrato y no en el método usado.

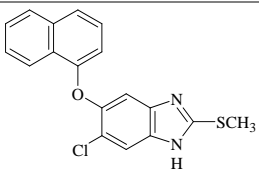
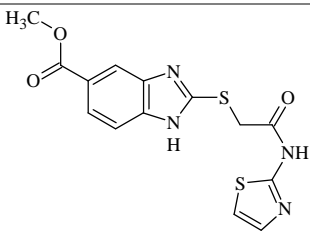
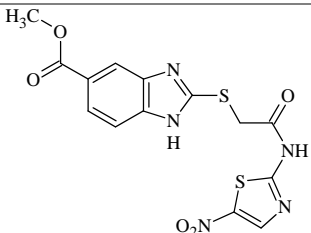
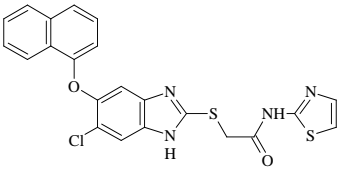
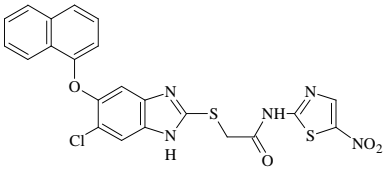
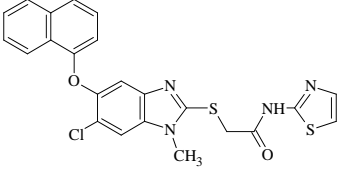
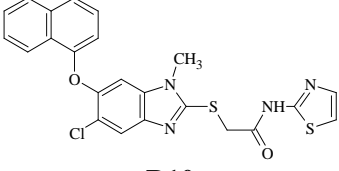
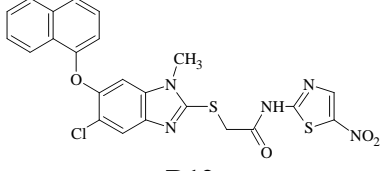
Finalmente, si bien es cierto que los rendimientos obtenidos con ayuda del microondas fueron modestos, resultaría prematuro descartar esta técnica en investigaciones futuras, ya que los experimentos realizados solo fueron de carácter exploratorio y se necesitarían muchos más experimentos para llegar a una conclusión válida.

7.2. PARTE BIOLÓGICA

7.2.1. Resultados de la actividad de los compuestos B7-B10 y B12 frente a la enzima TIM de *T. cruzi*

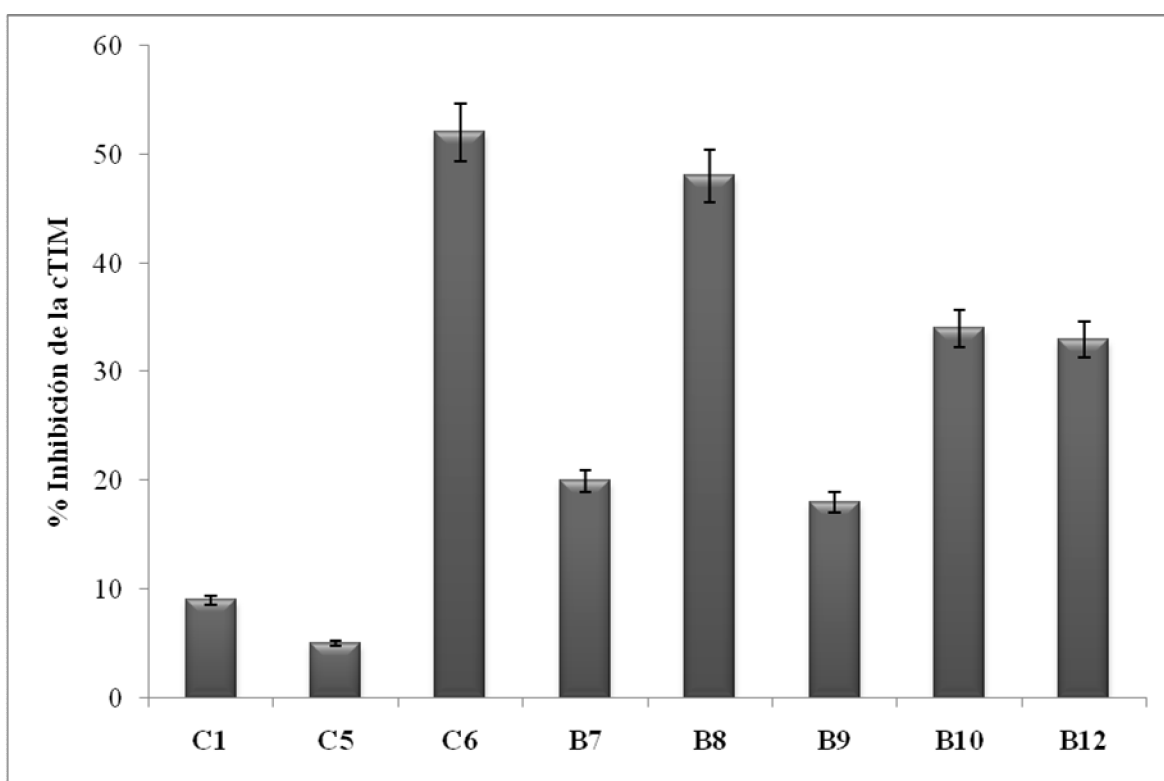
La actividad inhibidora de la TIM de las 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamidas sustituidas obtenidas se determinó mediante pruebas de inhibición de la enzima TIM del protozoario *T. cruzi* y los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 7.3**.

Tabla 7.3 Actividad inhibidora de las 2-tioacetamidas sobre la enzima TIM de *T. cruzi*

Compuesto	% Inhibición cTIM	Compuesto	% Inhibición cTIM
 <p>C1 (Alfa)</p>	9		
 <p>C5</p>	5	 <p>C6</p>	52
 <p>B7</p>	20	 <p>B8</p>	48
 <p>B9</p>	18		
 <p>B10</p>	34	 <p>B12</p>	33

Actividad sobre la TIM de *T. cruzi* (Gráfica 7.1)

- Todos los compuestos de esta serie presentaron mayor actividad que los compuestos líderes **C1 (Alfa)** y **C5**, siendo el más activo el compuesto **B8** (5.3 veces más activo que **C1** y 9.6 veces más activo que **C5**).
- Los compuestos **B7**, **B9**, **B10** y **B12** presentaron actividades inhibitoras de la cTIM entre 2 y 4 veces superiores a la del compuesto líder **C1** y fueron entre 4 y 6.8 veces más activos que **C5**.
- Ninguno de los compuestos evaluados presentó mayor actividad que el compuesto líder **C6** sobre la TIM de este parásito. Sin embargo, la actividad que presentó el compuesto **B8** fue muy similar.



Gráfica 7.1 Porcentaje de inhibición de las 2-tioacetamidas sintetizadas sobre la cTIM.

De lo anterior resaltan algunas observaciones importantes:

Primero, los compuestos híbridos unidos a través de un enlace tipo tioacetamida en la posición 2 del bencimidazol presentaron mejor actividad que el compuesto líder **C1**, lo que indica que el aumento de volumen en esta posición favorece la interacción entre estos compuestos y la enzima cTIM.

Al comparar la actividad inhibitoria del compuesto **B7** con la de sus derivados metilados, **B9** y **B10**, se observa que la actividad se incrementa significativamente en **B10**, cuando el patrón de sustitución es 1-metil-5-cloro-6-(1-naftiloxi). No obstante, el otro isómero

estructural en que los sustituyentes naftiloxi y cloro se hayan en posición 5 y 6 respectivamente, presentó una actividad similar a la del compuesto **B7**. Lo anterior puede indicar que el nitrógeno localizado en la posición 3 del bencimidazol de los compuestos **B10** y **B12** puede ser importante en el reconocimiento enzima-ligando ya sea como aceptor de puentes de hidrógeno o bien mediante interacciones de tipo electrónico que favorecen la formación del complejo, por lo que la metilación de dicho nitrógeno produjo una disminución en la actividad del compuesto **B9** con respecto a su isómero estructural **B10**. Este comportamiento puede atribuirse también al atropoisomerismo que presentó el compuesto **B10**, ya que dicho fenómeno implica que existen al menos dos arreglos espaciales en el compuesto, que dependiendo de su acomodo, pueden interactuar de distintas formas con la cTIM, lo que pudo contribuir en el aumento de la actividad observado de este compuesto con respecto a su isómero **B9** en el que no se presentó dicho fenómeno.

Además, puede observarse que la sustitución del anillo de tiazol con un grupo nitro en posición 5 incrementó la actividad del compuesto **B8** con respecto a su análogo no nitrado **B7**, lo que concuerda con reportes anteriores donde se observa que la presencia del grupo nitro favorece la actividad antiparasitaria.⁵¹

Por otro lado no se observó que el grupo naftiloxi incremente la actividad inhibitoria cuando se comparan los compuestos nitrados **C6** y **B8**; en el caso de los no nitrados **C5** y **B7**, se observó que **B7** fue 4 veces más activo que **C5**. De los experimentos NOESY de los compuestos **B10** y **B12** se puede ver que hay interacción entre los grupos aromáticos que conforman a las moléculas lo que puede verse reflejado en la disminución de la actividad inhibitoria sobre la enzima.

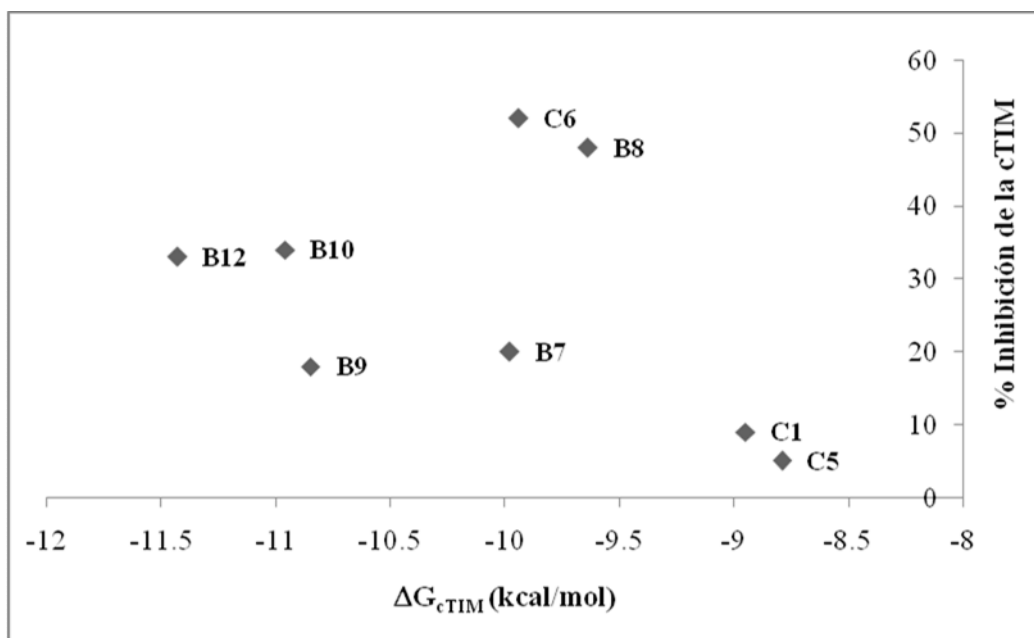
7.2.2. Comparación de los resultados de actividad de los compuestos B7-B10 y B12 frente a la enzima cTIM y los datos de Docking previamente obtenidos

A continuación se hace una breve comparación entre los resultados obtenidos de la prueba biológica con la cTIM y los datos obtenidos en el Docking (**Tabla 3.3**).

- Los resultados obtenidos del Docking indicaron que todos los compuestos serían más activos que el compuesto líder **C1**, lo que se corroboró con los datos de actividad biológica.
- Por otro lado, se esperaba que **B8** fuera el menos activo de los compuestos diseñados, pero dicha premisa resultó falsa ya que este compuesto fue el más activo de la serie.

Lo anterior puede apreciarse mejor en la **Gráfica 7.2**, que además muestra que no existe una relación lineal entre las energías calculadas para la interacción compuesto-enzima y la actividad inhibidora obtenida experimentalmente. Esto indica que el modelo de interacción utilizado para el cálculo no es el adecuado y debe realizarse un ajuste considerando factores adicionales como el atropoisomerismo mostrado por los compuestos **B10** y **B12**. Los ajustes realizados irán haciendo poco a poco que los resultados experimentales concuerden mejor con las energías de interacción del complejo cTIM-compuesto calculadas y de esta manera el modelo pueda predecir acertadamente la actividad de derivados de este tipo, con

lo cual en el futuro se podrán diseñar nuevos compuestos con mayores probabilidades de actividad.



Gráfica 7.2. Relación entre el resultado experimental del porcentaje de inhibición de los compuestos evaluados contra la cTIM y de las energías calculadas mediante Docking para los complejos cTIM-compuestos.

8. CONCLUSIONES

- Los compuestos híbridos derivados de los núcleos bencimidazol y tiazol sintetizados presentaron buena actividad como inhibidores de la TIM del protozoario *T. cruzi*, lo que concuerda con la hipótesis planteada.
- La presencia del grupo nitro en los compuestos obtenidos no fue un factor determinante para que se presentara actividad sobre la cTIM; sin embargo, el compuesto nitrado **B8** fue el más activo de la serie, presentando un porcentaje de inhibición del 48%.
- La presencia del grupo metilo no contribuyó considerablemente en la actividad inhibidora de este grupo de compuestos sobre la cTIM.
- Se lograron sintetizar cinco de los seis compuestos finales de tipo 2-(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetamida mediante una síntesis convergente según el método de Turan-Zitouni.
- El compuesto final 2-{{6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio}-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**B9**) se obtuvo mediante una reacción de metilación moderadamente regioselectiva de la 2-{{6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio}-*N*-1,3-tiazol-2-il acetamida (**B7**).
- Se optimizó la síntesis de la 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**) al modificar la ruta sintética previamente planteada.
- Fueron realizadas pruebas de síntesis de los compuestos 4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**) y *N*-[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (**5**) en microondas, con resultados modestos que sugieren mayores estudios.
- El aumento de núcleos aromáticos en las moléculas sintetizadas no mejoró su actividad inhibitoria.
- A todos los compuestos puros se les determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.
- El modelo de Docking empleado no predice adecuadamente la actividad que presentó este grupo de compuestos sobre la cTIM, por lo que debe optimizarse.
- Debido a las características estructurales de este grupo de compuestos puede considerarse la probabilidad de un mecanismo de acción dual como agentes tripanocidas en un modelo de evaluación sobre el parásito, ya que estos compuestos, teóricamente, pueden tanto inhibir la actividad de la cTIM, como presentar un mecanismo similar al de otros nitroheterociclos.
- Los resultados obtenidos en este trabajo ya forman parte de la base de datos de derivados bencimidazólicos evaluados como antiparasitarios, por lo que contribuyen a que en un futuro se conozcan con precisión los parámetros que establecen la relación estructura-actividad de estos compuestos.

9. PARTE EXPERIMENTAL

9.1. Instrumentación

- Los puntos de fusión (pf) de los compuestos se determinaron en un aparato marca Büchi modelo B-540 mediante capilar y no están corregidos.
- La evaporación de los disolventes se realizó a presión reducida empleando un rotaevaporador marca Büchi modelo RE-114, con vacío generado con una bomba marca GAST modelo 0523-V4F, baño de agua modelo B-480 y compresora VWR Scientific modelo 1107.
- Las reacciones en microondas se llevaron a cabo en un equipo Multiwave Synthos 3000 marca Anton Parr con rotor 64MG5-16, con una potencia de 900 Watts.
- Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier, marca Perkin Elmer modelo FT-IR-1600 en pastilla de bromuro de potasio (KBr); la posición de las bandas se informan en cm^{-1} .
- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN ^1H) se determinaron en un espectrómetro marca VARIAN modelo Unity Inova 300 MHz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolventes DMSO- d_6 y CDCl_3 , y D_2O para el intercambio de protones unidos a heteroátomos. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm).
- Los espectros de masas (EM) se determinaron por las técnicas de cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) y/o FAB^+ en un espectrofotómetro de masas marca JEOL, modelo JMS-SX-102, acoplado a un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 5890 Serie II.

9.2. Cromatografía

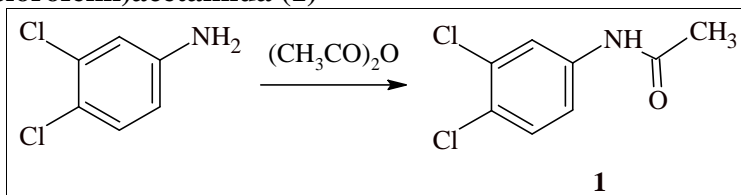
- El avance de las reacciones y la pureza de los productos obtenidos se determinaron por cromatografía en capa fina (ccf) en placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60 F_{254} de marca Merck. La visualización de los compuestos orgánicos se realizó con una lámpara de luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo.
- Para las cromatografías en columna se empleó gel de sílice Merck 60 malla 70-230.
- Los sistemas de elución utilizados para la cromatografía en capa fina se enlistan en la siguiente tabla:

Tabla 9.1 Sistemas de elución utilizados para la ccf

Sistema	Composición	Proporción
I	Hexano/ CHCl_3 /AcOEt	50:35:15
II	CHCl_3 /MeOH	99.5:0.5
III	CHCl_3 /MeOH	99:1
IV	CHCl_3 /MeOH	90:10
V	CHCl_3 /MeOH	95:5
VI	Hexano/AcOEt	85:15
VII	CHCl_3 /Acetona	95:5

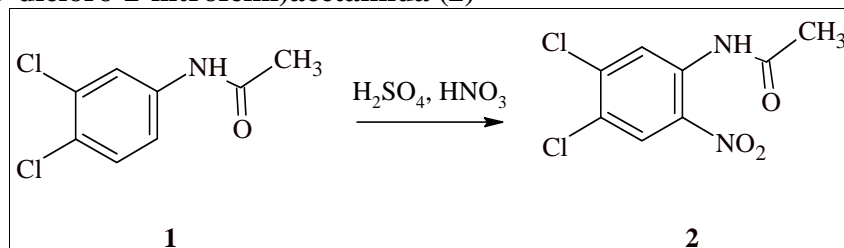
9.3. Procedimientos experimentales para la síntesis de los precursores y compuestos finales

9.3.1. *N*-(3,4-diclorofenil)acetamida (1)



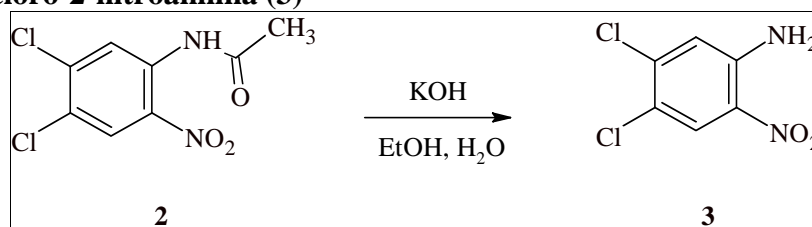
En un vaso de precipitados de 250 mL se colocaron 43.61 g (269.2 mmol) de 3,4-dicloroanilina, a los cuales se adicionaron 36.2 mL (382.9 mmol) de anhídrido acético. Durante la adición se mantuvo la temperatura por debajo de los 60 °C utilizando un baño de hielo-agua y agitación magnética. Después de 10 minutos se formó un sólido blanco y la ccf mostró el consumo total de materia prima. A la mezcla de reacción se agregaron 200 mL de agua helada, se agitó y el sólido blanco que precipitó se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 54.16 g de producto (98.6% de rendimiento crudo) con un $R_f = 0.16$ en el sistema I, de los cuales se recrystalizaron 2.03 g de etanol y se obtuvieron 1.78 g de cristales blancos, con un rendimiento del 86.4% y con un p_f de 121.5-122.7 °C. [Lit.⁵⁷ 121-122 °C].

9.3.2. *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (2)



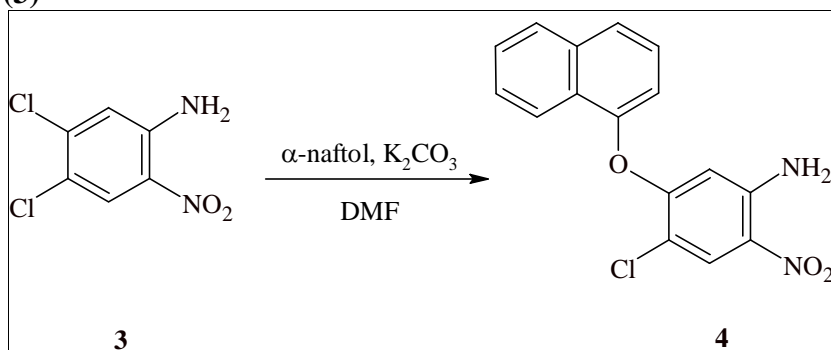
En un vaso de precipitados de 250 mL, acondicionado con termómetro, embudo de adición y agitación mecánica se disolvieron 49.80 g (244.1 mmol) de 1 en 100 mL de H_2SO_4 concentrado manteniendo la temperatura por debajo de los 15 °C. La solución así obtenida se enfrió a 0 °C en un baño de hielo-sal granular y se le adicionaron, por goteo lento, 12 mL (286.2 mmol) de HNO_3 concentrado manteniendo la temperatura de la reacción entre 4-7 °C. Una vez concluida la adición se mantuvo la agitación por 30 minutos más y se corroboró el consumo total de materia prima por ccf. La mezcla de reacción se vertió entonces sobre 500 g de hielo, contenidos en un vaso de precipitados, formándose un sólido amarillo que se separó por filtración al vacío y se lavó con agua hasta pH neutro. Se obtuvieron 55.51 g de producto crudo (91.3% de rendimiento), que mostró por ccf un compuesto principal con un $R_f = 0.38$ en el sistema I. El sólido se recrystalizó de metanol-agua y se obtuvieron 36.89 g (60.7% de rendimiento) de cristales en forma de hojuelas color amarillo claro con p_f de 124.2-124.7 °C [Lit.⁵⁷ 123-124 °C].

9.3.3. 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (**3**)



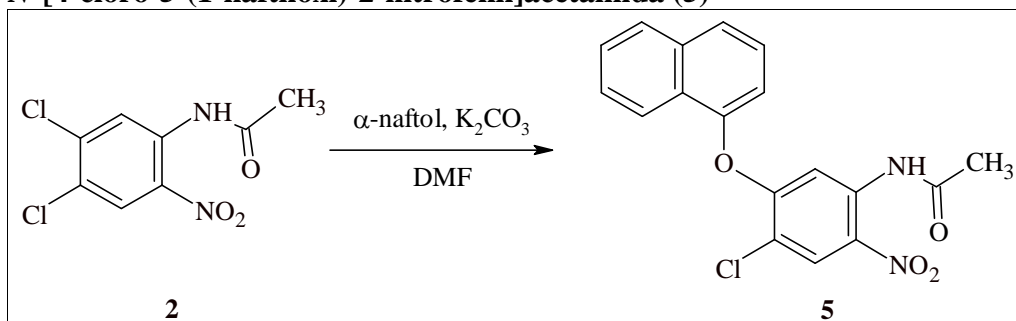
En un matraz bola de 3 bocas de 100 mL, adaptado con embudo de adición, condensador de reflujo y agitación magnética, se colocaron 3.46 g (13.9 mmol) de **2** y se disolvieron en 20 mL de etanol a 60 °C. A la solución se adicionaron con goteo lento 1.02 g (18.2 mmol) de KOH disueltos en 1.5 mL de agua y la mezcla de reacción se calentó a reflujo por 25 minutos observándose, por cc, el consumo total de la materia prima. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evaporó el etanol a presión reducida. Al producto obtenido se le adicionaron 15 mL de agua y el sólido amarillo naranja que se formó se separó por filtración al vacío, se lavó con agua helada y se secó al aire. Se obtuvieron 2.81 g de producto (97.7% de rendimiento crudo) con un R_f = 0.51 en el sistema II, que recristalizados de etanol dieron 2.61 g (90.6% de rendimiento) de cristales amarillos y un pf de 175.6-176.2 °C [Lit.⁵⁷ 177-178 °C].

9.3.4. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**). Método 1. A partir de la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (**3**)



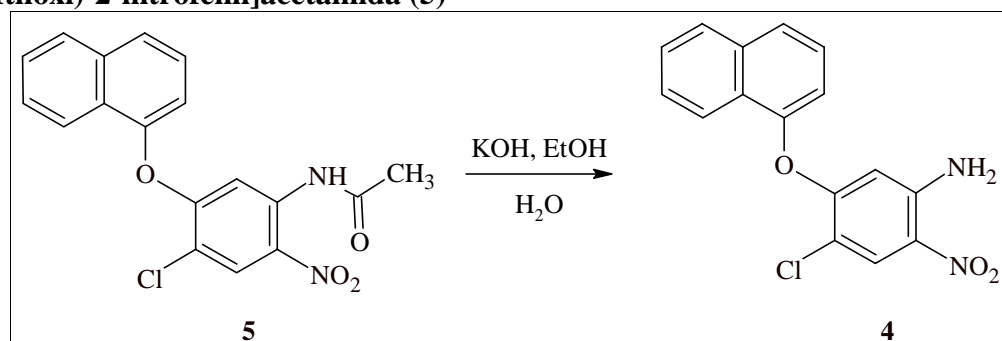
En un matraz bola de 100 mL, acondicionado con agitación magnética, termómetro, baño de aceite y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 1.84 g (8.9 mmol) de **3**, 1.73 g (12.0 mmol) de α-naftol, 1.61 g (11.65 mmol) de K₂CO₃ y 15 mL de DMF. La mezcla se calentó a 110-113 °C por 4 horas, tiempo en el que se consumió la materia prima. Se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó la DMF a presión reducida. Se formó un líquido viscoso al que se le adicionaron 20 mL de agua helada, formándose un sólido café oscuro que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se dejó secar al aire. Se obtuvieron 1.98 g del producto crudo (70.7% de rendimiento) que se disolvieron en metanol y se decoloraron con carbón activado (5%) y luego se recristalizaron de metanol para dar 1.23 g (44.0% de rendimiento) de cristales naranjas con un R_f = 0.56 en el sistema II y un pf de 144.3-145.5 °C. [Lit.⁵⁷ 145-146 °C].

9.3.5. *N*-[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (**5**)



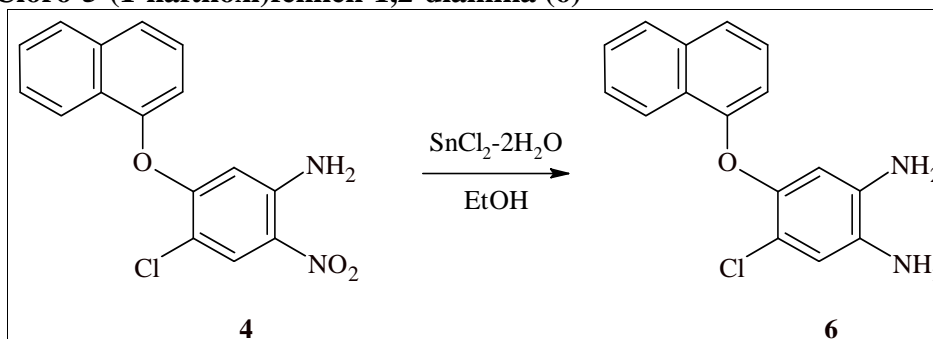
En un matraz bola de 250 mL, acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, atmósfera de nitrógeno y termómetro, se mezclaron 15.20 g (61.0 mmol) de **2**, 9.64 g (66.9 mmol) de α -naftol, 10.02 g (72.5 mmol) de K_2CO_3 y 70 mL de DMF anhidra, luego se calentó a 85-90 °C durante 2.5 horas, tiempo en que se observó el consumo total de materia prima por ccf. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se formó un sólido café que se suspendió en 50 mL de agua fría. El producto se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se dejó secar al aire. Se obtuvieron 19.83 g del producto crudo (91.1% de rendimiento) que presentó un $R_f = 0.58$ en el sistema II. El producto se recristalizó de acetato de etilo y se obtuvieron 19.02 g (87.4% de rendimiento) de cristales amarillo canario con pf de 178.1-178.7 °C.

9.3.6. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**4**). Método 2. A partir de la *N*-[4-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (**5**)



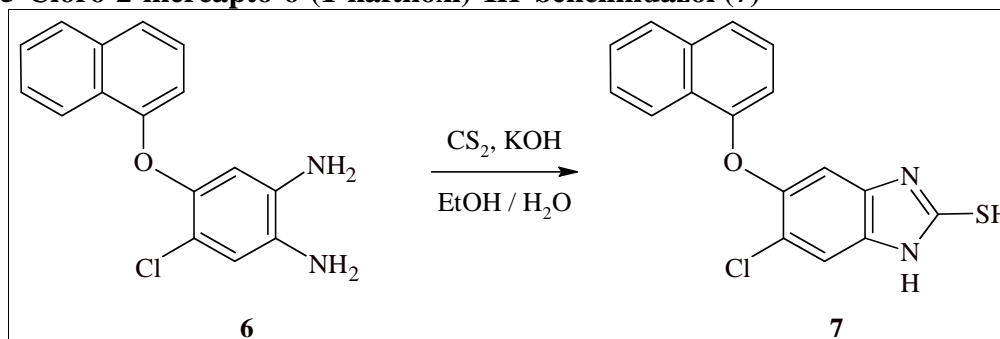
En un matraz bola de tres bocas de 250 mL, adaptado con refrigerante en posición de reflujo, embudo de adición, agitación magnética y termómetro, se mezclaron 17.21 g (48.2 mmol) de **5** en 120 mL de etanol. Se adicionaron por goteo lento 3.51 g (62.6 mmol) de KOH disueltos en 10 mL de agua, manteniendo una temperatura entre 45-50 °C. Media hora después de la adición concluyó el consumo de materia prima. La mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados con agua fría y se neutralizó con HCl al 15%. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 14.9 g de producto crudo (98.2% de rendimiento), con una sola mancha en el sistema III ($R_f = 0.75$), que recristalizados de metanol dieron 13.72 g (90.3% de rendimiento) de cristales color naranja con pf de 144.9-145.6 °C [Lit.⁵⁷ 145-146].

9.3.7. 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (6)



En un matraz bola de 250 mL, adaptado con refrigerante en posición de reflujo, baño de aceite, agitación magnética y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 10.22 g (32.5 mmol) de **4**, 36.75 g (162.9 mmol) de cloruro estanoso dihidratado y 100 mL de etanol. Enseguida se llevaron a reflujo por dos horas. Transcurrido este tiempo se observó el consumo total de materia prima por ccf. La mezcla de reacción se enfrió en baño de hielo/agua, se vertió en un vaso de precipitados y se alcalinizó hasta pH 8 con una solución saturada de NaOH. La solución café que se había formado inicialmente se tornó en una suspensión color rosa claro. Las sales de estaño resultantes se separaron por filtración al vacío y se concentró el etanol a presión reducida. Se lavaron las sales de estaño con acetato de etilo hasta que la solución fue incolora y los 250 mL de acetato de etilo resultantes se lavaron con una solución saturada de NaCl (3 x 80 mL) y se secaron con sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se concentró a presión reducida y se obtuvieron 8.34 g (90.1% de rendimiento crudo) de un aceite café oscuro que en ccf mostró una mancha principal con un $R_f = 0.36$ en el sistema IV. El compuesto así obtenido no se purificó y se utilizó crudo en la siguiente reacción.

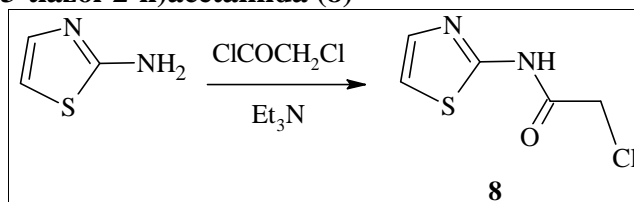
9.3.8. 5-Cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol (7)



En un matraz bola de 250 mL, adaptado con refrigerante en posición de reflujo, agitación magnética, termómetro, embudo de adición y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 8.34 g (29.3 mmol) de **6** y 60 mL de una mezcla de etanol-agua 80:20. Se adicionaron 2.54 g (45.3 mmol) de KOH disueltos en 4 mL de agua y 2.7 mL (44.9 mmol) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción se mantuvo entre 65-70 °C durante 2.5 horas, tiempo en el que se consumió toda la materia prima. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió sobre 75 mL de agua fría en un vaso de precipitados. Y luego se aciduló a pH 5 con una solución de AcOH al 10%. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 7.69 g de producto (80.3% de

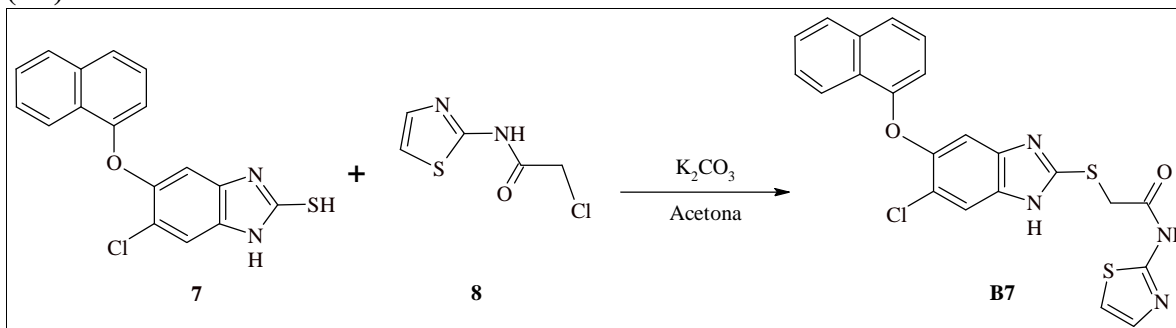
rendimiento crudo), con una sola mancha en el sistema IV ($R_f = 0.55$). El sólido obtenido se decoloró con carbón activado (5%) en una mezcla $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 80:20. Y después se recrystalizó obteniéndose 7.32 g (Rendimiento del 76.4%) de un sólido color crema con un pf de 266.4-267.6 °C. [Lit.⁵⁷ 263-265 °C].

9.3.9. 2-Cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**8**)



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con embudo de adición, agitación magnética y trampa de humedad, se suspendieron 2.03 g (20.3 mmol) de 2-aminotiazol en 9.5 mL de glima anhidra y se adicionaron 1.5 mL (20.7 mmol) de trietilamina anhidra. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se le adicionaron 1.7 mL (21.2 mmol) de cloruro de cloroacetilo con goteo lento. Se dejó agitando por dos horas en un baño de agua a temperatura ambiente y el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se lavó repetidas veces con agua helada y se secó al aire, obteniéndose 2.51 g de producto crudo (70.0% de rendimiento). Finalmente, el producto crudo se recrystalizó de acetonitrilo, obteniéndose 2.26 g de cristales en forma de agujas blancas con un rendimiento del 63.0%. Este compuesto presentó un $R_f = 0.52$ en el sistema V y pf de 176.3-177.2 °C. [Lit.⁴⁸ 176.5-177.7 °C].

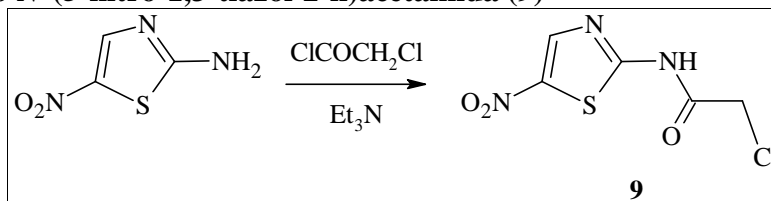
9.3.10. 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B7**)



En un matraz bola de 100 mL, adaptado con trampa de humedad y agitación magnética, se suspendieron 1.02 g (3.1 mmol) de **7** en 5 mL de acetona. Se adicionaron 0.49 g (3.5 mmol) de K_2CO_3 disueltos en 1 mL de agua, y 0.65 g (3.7 mmol) de la cloroacetamida **8** disueltos en 10 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación magnética a temperatura ambiente durante 24 horas. Después de este tiempo, se observó el consumo total de materia prima por ccf y se concentró la acetona a presión reducida. El aceite café resultante se suspendió en 10 mL de agua y después de 30 minutos de agitación se formó un sólido blanco que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 1.32 g de producto (90.6% de rendimiento crudo), el cual mostró una mancha principal de $R_f = 0.13$ en el sistema V. Una muestra de 0.63 g del sólido anterior se purificó por cromatografía en columna, utilizando gel de sílice y acetato de etilo como eluyente. Se

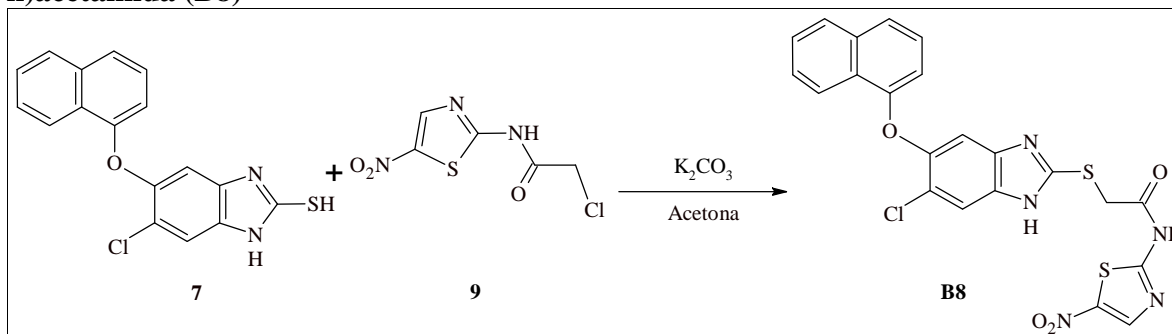
obtuvieron 0.39 g (56.1% de rendimiento) de un sólido blanco con un pf de 132.3-133.0 °C (funde con descomposición).

9.3.11. 2-Cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9)



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con agitación magnética, embudo de adición y trampa de humedad, se mezclaron 5.33 g (36.7 mmol) de 2-amino-5-nitrotiazol y 25 mL de glima anhidra. La solución se enfrió en un baño de hielo y con agitación magnética, se adicionaron 2.7 mL (37.7 mmol) de trietilamina anhidra y luego se añadieron 3.1 mL (38.1 mmol) de cloruro de cloroacetilo, con goteo lento. Se mantuvo la mezcla de reacción con agitación magnética en baño de agua a temperatura ambiente por 2.5 horas. Transcurrido este tiempo, se observó mediante análisis en ccf el consumo total de materia prima. Se vertió la mezcla de reacción en un vaso de precipitados y la solución ácida (pH 3) se neutralizó con K₂CO₃. Se evaporó la glima a presión reducida y el residuo obtenido se suspendió en agua helada precipitando un sólido que se separó por filtración al vacío. Se lavó con agua fría y se secó al aire, obteniéndose 6.97 g de producto (85.7% de rendimiento crudo), con una sola mancha en el sistema V (R_f = 0.45), que recristalizados de acetonitrilo dieron 5.62 g (69.1% de rendimiento) de cristales amarillo claro, con un pf de 157.5-158.2 °C. [Lit.⁴⁸ 157.1-157.9 °C].

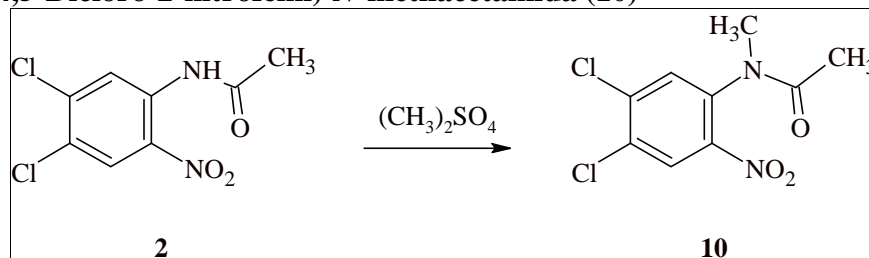
9.3.12. 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)



En un matraz bola de 100 mL, adaptado con agitación magnética y trampa de humedad se suspendieron 1.01 g (3.1 mmol) de **7** en 5.0 mL de acetona y se mezclaron con 0.49 g (3.5 mmol) de K₂CO₃ disueltos en 1 mL de agua y 0.74 g (3.3 mmol) de la cloroacetamida **9** disueltos en 10 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo en un baño de agua a temperatura ambiente durante 24 horas, observándose el consumo total de materia prima por en ccf. Se evaporó la acetona a presión reducida y el residuo obtenido se trató con 10 mL de agua fría. El sólido que precipitó, se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvo 1.35 g de un sólido café (85.1% de rendimiento crudo), que mostró una mancha principal en el sistema III con R_f = 0.63. Una muestra del producto crudo (0.72 g) se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando acetato

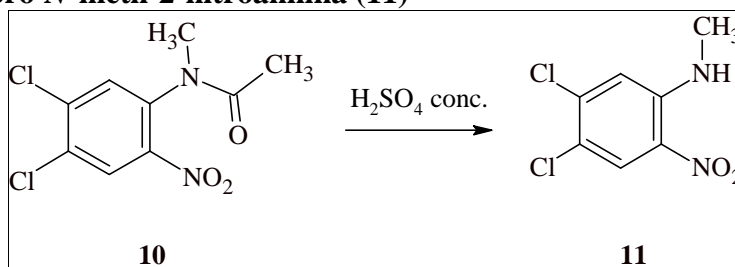
de etilo como eluyente. Se obtuvieron 0.21 g (24.8% de rendimiento) con un pf de 121.4-122.7 °C (con descomposición).

9.3.13. *N*-(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (10)



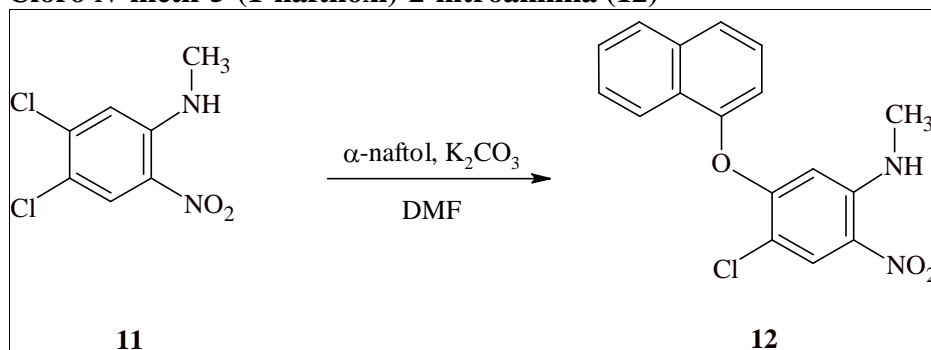
En un matraz bola de tres bocas de 250 mL, adaptado con agitación magnética, termómetro y embudo de adición, se mezclaron 10.12 g (40.6 mmol) de **2**, 5.8 mL (60.9 mmol) de sulfato de dimetilo y 50 mL de glima. A la mezcla agitada vigorosamente y a 30 °C se adicionó con goteo lento una solución de 2.41 g (60.3 mmol) de NaOH al 50% m/v de agua, de tal forma que la temperatura de la reacción se mantuviera entre 30-35 °C. Una vez concluida la adición, se comprobó el consumo total de la materia prima por ccf y la mezcla de reacción se vertió sobre 100 g de hielo-agua en un vaso de precipitados. Se formó un sólido amarillo que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 9.63 g de producto (90.2% de rendimiento crudo) con un $R_f = 0.21$ en el sistema I. El producto obtenido se recrystalizó de etanol; obteniéndose 8.53 g (79.9% de rendimiento) de cristales amarillos con pf de 96.9-97.4 °C [Lit.⁶¹ 96.0-96.5 °C].

9.3.14. 4,5-Dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina (11)



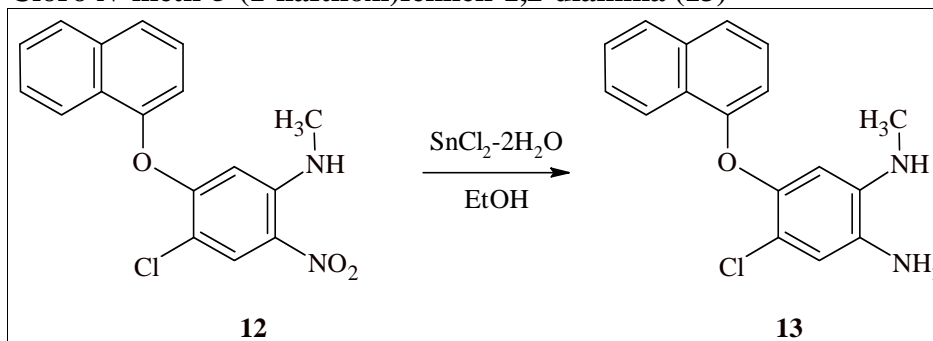
En un vaso de precipitados de 250 mL, adaptado con termómetro, baño de aceite y agitación magnética, se colocaron 6.17 g (23.45 mmol) de **10** y 40 mL de ácido sulfúrico concentrado y la mezcla de reacción se calentó a 80-85 °C. Después de 20 minutos se comprobó la hidrólisis total de la materia prima mediante ccf. Se dejó enfriar a temperatura ambiente, se vertió sobre 100 g de hielo-agua en un vaso de precipitados y el sólido color naranja que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua hasta pH neutro y se secó al aire. Se obtuvieron 5.03 g de producto (97.0% de rendimiento crudo) que se recrystalizó de etanol y se obtuvieron 3.92 g (Rendimiento del 75.6%) de cristales en forma de agujas pequeñas color naranja intenso con $R_f = 0.63$ en el sistema I y con pf 148.4-148.9 °C. [Lit.⁶³ 148 °C].

9.3.15. 4-Cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (**12**)



En un matraz de bola de 50 mL, adaptado con condensador en posición de reflujo y agitación magnética, baño de aceite y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 1.93 g (8.7 mmol) de **11**, 1.36 g (9.4 mmol) de α -naftol, 1.26 g (9.1 mmol) de K_2CO_3 y 3 mL de DMF. La mezcla de reacción se calentó a 80-85 °C durante tres horas, observándose consumo total de materia prima mediante ccf. Se enfrió a 40 °C y se vertió sobre 10 mL de agua a la misma temperatura en un vaso de precipitados, manteniendo agitación constante. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 2.59 g de un sólido café (90.5% de rendimiento crudo) con $R_f = 0.25$ en el sistema VI. El producto crudo se recrystalizó con la mezcla de disolventes etanol-acetato de etilo (80:20); obteniéndose 1.98 g (69.2% de rendimiento) de un sólido amarillo con pf de 165.3-166.6 °C. [Lit.⁶² 167-169 °C].

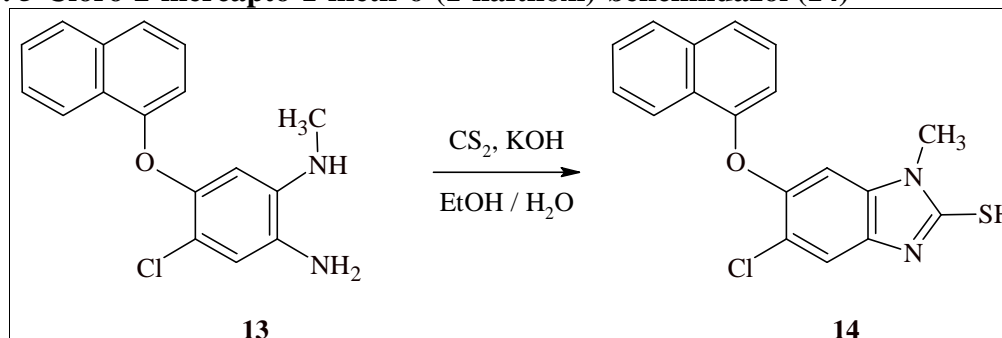
9.3.16. 4-Cloro-*N*-metil-5-(1-naftiloxi)fenilen-1,2-diamina (**13**)



En un matraz de bola de 250 mL, adaptado con condensador en posición de reflujo, atmósfera de nitrógeno y agitación magnética, se mezclaron 6.31 g (19.2 mmol) de **12**, 19.24 g (85.27 mmol) de cloruro estanoso dihidratado y 50 mL de etanol. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2.5 horas, consumiéndose totalmente la materia prima. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo/agua, se vertió en un vaso de precipitados y se alcalinizó con una solución saturada de NaOH hasta pH 8, con lo que la solución café inicial se volvió una suspensión rosa. El sólido formado se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró a presión reducida. Las sales de estaño resultantes se lavaron varias veces con acetato de etilo hasta que la solución resultante carecía de color. Los 150 mL de acetato de etilo utilizados para lavar se reunieron y se lavaron con una solución saturada de NaCl (3 x 50 mL) y se secaron con sulfato de sodio anhidro. El disolvente se concentró a presión reducida obteniéndose 5.18 g (90.3% de

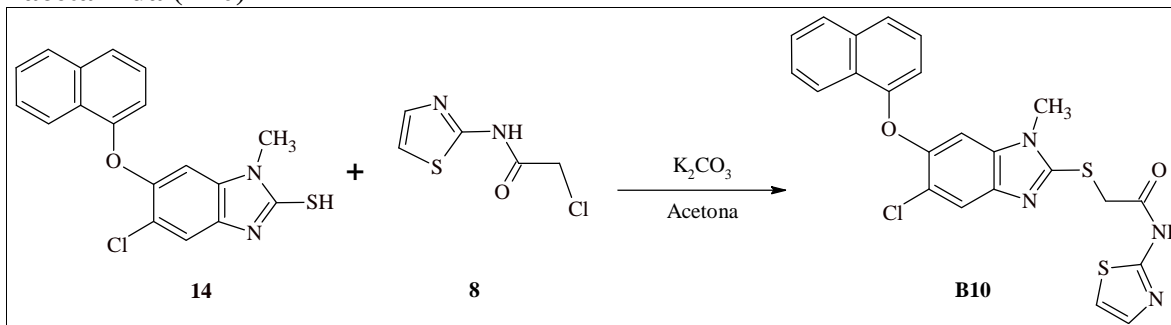
rendimiento crudo) de un aceite color café oscuro con $R_f = 0.39$ en el sistema IV. El producto así obtenido no se purificó y se utilizó crudo en la siguiente reacción.

9.3.17. 5-Cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)-bencimidazol (14)



En un matraz bola de 250 mL, adaptado con condensador en posición de reflujo, baño de aceite, atmósfera de nitrógeno y agitación magnética, se mezclaron 5.18 g (17.3 mmol) de **13** y 50 mL de una mezcla de etanol/agua 80:20. Se adicionaron 1.47 g (26.2 mmol) de KOH disueltos en 2.0 mL de agua y 1.6 mL (26.6 mmol) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción se calentó entre 65-75° C durante 2.5 horas, tiempo durante el cual se observó el consumo total de materia prima mediante ccf. Se enfrió a temperatura ambiente y se vertió sobre 100 mL de agua fría en un vaso de precipitados, se aciduló a pH entre 4 y 5 con una solución de AcOH al 10%. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 5.02 g de producto (85.1% de rendimiento crudo), con una sola mancha en el sistema IV ($R_f = 0.61$). El producto crudo se recrystalizó de EtOH/acetona 50:50 dando 4.46 g (75.6% de rendimiento) de un sólido blanco con un mp de 272.4-273.8 °C. [Lit.⁶² 272-273 °C].

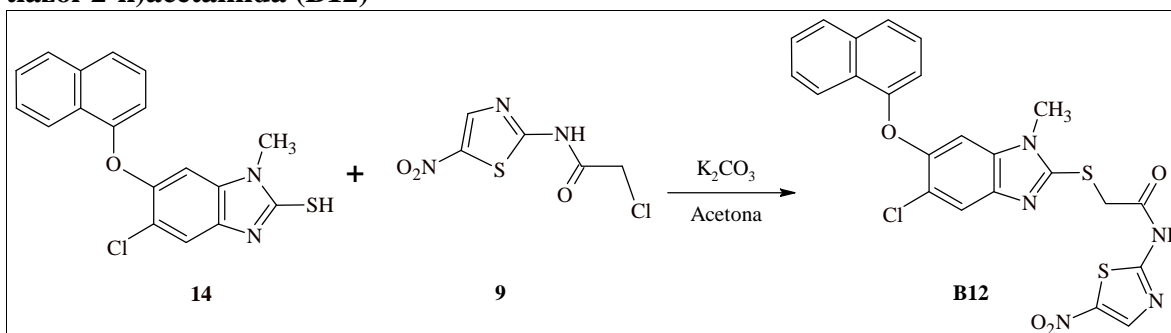
9.3.18. 2-[[5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10)



En un matraz bola de 100 mL, adaptado con agitación magnética y trampa de humedad, se disolvieron 0.50 g (1.5 mmol) de **14** en 5 mL de acetona. Se adicionaron 0.33 g (2.4 mmol) de carbonato de potasio disueltos en 1 mL de agua y 0.42 g (2.4 mmol) de la cloroacetamida **8** disueltos en 10 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas, observándose consumo total de la materia prima mediante ccf, se eliminó el disolvente a presión reducida y el aceite residual se trató con 15 mL de agua fría con lo cual precipitó un sólido blanquecino que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 0.55 g de un sólido color beige (76.2% de rendimiento crudo), con una mancha principal de $R_f = 0.40$ en el

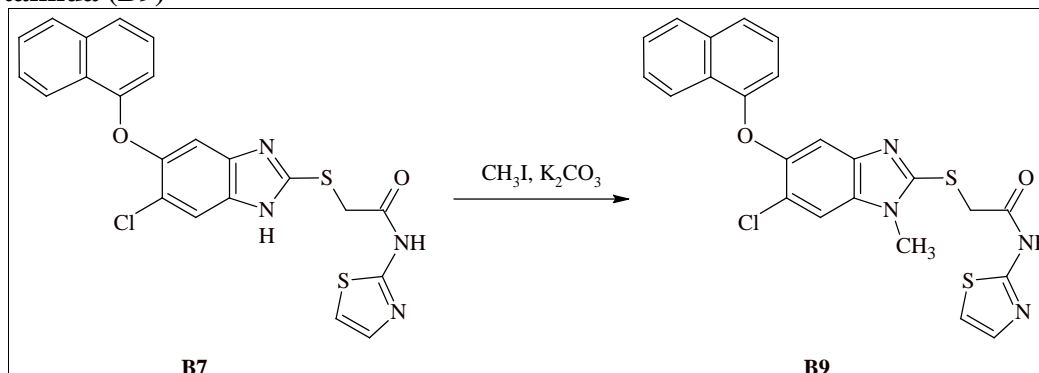
sistema IV. El sólido obtenido se disolvió en 15 mL de DMF fría y se decoloró con carbón activado (5%). El carbón se separó por filtración sobre celita y la solución resultante se vertió sobre 20 mL de agua, con lo que se formó un sólido que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 0.41 g de un sólido blanco (56.8% de rendimiento), con un pf de 229.7-231.3 °C (funde con descomposición).

9.3.19. 2-[[5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)



En un matraz bola de 100 mL, adaptado con agitación magnética y trampa de humedad, se disolvieron 1.13 g (3.3 mmol) de **14** en 5 mL de acetona. Se adicionaron 0.63 g (4.6 mmol) de K_2CO_3 disueltos en 0.5 mL de agua y 1.01 g (4.6 mmol) de la cloroacetamida **9** disueltos en 10 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente en baño de agua y con agitación magnética durante dos días. Una vez concluido este tiempo, se observó el consumo total de materia prima por análisis de ccf. El disolvente se eliminó a presión reducida y el sólido residual de color ocre, se suspendió en 10 mL de agua. Se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 1.61 g de un sólido amarillo ocre (92.9% de rendimiento crudo) que en ccf mostró un producto principal de $R_f = 0.61$ en el sistema III. Una muestra de 0.58 g del producto crudo se purificó por cromatografía en columna usando gel de sílice y acetona como eluyente. Se obtuvieron 0.37 g (59.1% de rendimiento) de un sólido color crema con pf de 223.6-225.1 °C (funde con descomposición).

9.3.20. 2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B9**)



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con agitación magnética, trampa anhidra, termómetro y embudo de adición, se suspendieron 2.72 g (5.8 mmol) de **B7** en 5 mL de DMF. Posteriormente se adicionaron 0.97 g (7.02 mmol) de K_2CO_3 disueltos en 1.0 mL de agua y a la mezcla enfriada en un baño de hielo, se le agregaron con goteo lento, 0.4 mL (6.41 mmol) de CH_3I , a una temperatura entre 0 y 5 °C. Al término de la adición del yoduro de metilo la reacción se mantuvo a esa temperatura y con agitación durante 3 horas más, consumiéndose totalmente la materia prima. La mezcla de reacción se vertió sobre 10 mL de agua en un vaso de precipitados con lo que se formó un sólido color beige que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 2.44 g de producto (87.2% de rendimiento crudo), que mostró dos manchas en el sistema VII, la principal con un $R_f = 0.33$. Una muestra de 0.32 g de la mezcla se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 50:50 como eluyente. Se obtuvieron 83.3 mg (22.7% de rendimiento) de un sólido blanco con pf de 193.1-194.5 °C (funde con descomposición).

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Secretaría de Salud. Parasitosis intestinales en México. Consultada en Marzo de 2007. URL: <http://www.ssa.gob.mx>
2. Organización Mundial de la Salud. For research of diseases of poverty, Helminths. Consultada en Agosto de 2009. URL: <http://www.who.int/tdr>
3. Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández, A.; Yépez, L.; Hernández, F.; Navarrete, G.; Tapia, A.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R. Synthesis and Antiparasitic Activity of 1*H*-Benzimidazole Derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2002**, *12*, 2221-2224.
4. Hinojosa, R.; Düsman, L.; Ueda-Nakamura, T.; Dias, B; Morgado, A.; Sarragiotto, M.; Vataru, C. Biological activity of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxamides against *Trypanosoma cruzi*, *Acta Tropica*, **2009**, *110*, 7–14.
5. Anez, N.; Bazzani, R.; Coto, H.; Alquezar, A.; Briceño, R.; Diap, G.; Altcheh, J.; Castillo, M.; Docampo, R.; Ribeiro, R. *et. al.* Reporte sobre la Enfermedad de Chagas, *Programa Especial de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales (TDR), UNICEF/PNUD/Banco Mundial/OMS*, **2007**, 15-80.
6. Bogitsh, B; Carter, C.; Oeltmann, T. Human Parasitology 3rd edition. *Elsevier Academic Press*, **2005**, 122-128.
7. Leonardi, D.; Salomón, C.; Lamas, M.; Olivieri, A. Development of novel formulations for Chagas' disease: Optimization of benzimidazole chitosan microparticles based on artificial neural networks, *International Journal of Pharmaceutics*, **2009**, *367*, 140–147.
8. Muñoz, J.; Gómez, J.; Gállego, M.; Gimeno, F.; Treviño, B.; López-Chejade, P.; Ribera, O.; Molina, L.; Sanz, S.; Pinazo, M.; Riera, C.; Posada, E.; Sanz, G.; Portús, M.; Gascona, J. Clinical profile of *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic setting: Immigration and Chagas disease in Barcelona (Spain), *Acta Tropica*, **2009**, *111*, 51–55.
9. Tay, J.; Lara, R.; Velasco, O.; Gutiérrez, M. Parasitología Médica, *Méndez Editores*, **1995**, 109-131.
10. Wikipedia, la enciclopedia libre. “Enfermedad de Chagas Mazza”, imágenes: Trypanosoma_cruzi_ciclo_de_vida.png y Trypanosomatid_Cellular_Forms.png. Consultada en Agosto de 2009. URL: http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_de_Chagas
11. NASA, EARTH, INBIO, UNA, UCN, USACH, UDELAR, INP, UAB/CBSE. The Chagas Space Group. Consultada en Abril de 2009. URL: <http://www.chagospace.org/eng/index.htm>
12. Pires, M.; Cortez, M.; Yukio F.; Fernandes, M.; Freymuller, E.; Yoshida, N.; Arruda, R. Unique behavior of *Trypanosoma dionisii* interacting with mammalian cells: Invasion, intracellular growth, and nuclear localization, *Acta Tropica*, **2009**, *110*, 65–74.
13. Tekiel, V.; Alba-Soto, C.; González, S.; Postan, M.; Sánchez, D. Identification of novel vaccine candidates for Chagas' disease by immunization with sequential fractions of a trypomastigote cDNA expression library. *Vaccine*, **2009**, *27*, 1323–1332.

14. Dumonteil, E.; Vaccine development against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* species in the post-genomic era, *Infection, Genetics and Evolution*, **2009**, doi:10.1016/j.meegid.2009.02.009.
15. Vallejo, G.; Guhl, F.; Schaub, G. Triatominae–*Trypanosoma cruzi*/T. rangeli: Vector–parasite interactions, *Acta Tropica*, 2009, *110*, 137–147.
16. Instituto Mario Fatale Chaben. Mal de Chagas. Consultada en Abril de 2009. URL: <http://www.mflor.mx/materias/temas/malchagas/malchagas.htm>
17. eMedicine.com, Inc. Yves Carlier, MD, MSc. *Chagas Disease (American Trypanosomiasis)*. Consultada en Abril de 2009. URL: <http://emedicine.medscape.com/article/214581-overview>
18. Marcili, A.; Valente, V.; Valente, S.; Junqueira, A.; da Silva, F.; Neves Pinto, A.; Naiff, R.; Campaner, M.; Coura, J.; Camargo, E.; Miles, M.; Teixeira, M. *Trypanosoma cruzi* in Brazilian Amazonia: Lineages TCI and TCIIa in wild primates, *Rhodnius* spp. and in humans with Chagas disease associated with oral transmission, *International Journal for Parasitology*, **2009**, *39*, 615–623.
19. Hernández, M. E.; Diagnóstico y Manifestaciones Clínicas de la Enfermedad de Chagas, Tesina, Facultad de Odontología, UNAM, **2008**.
20. Cossy, S.; Rodríguez, M.; Pereira, B.; Díaz-Luján, C.; Fretes, R.; Hänen, D. *Trypanosoma cruzi*: Altered parasites after in vitro treatment with gangliosides, a therapeutic agent in experimental Chagas disease, *Experimental Parasitology*, **2009**, *122*, 218–225.
21. Ribeiro, C.; López, N.; Ramírez, G.; Valck, C.; Molina, M.; Aguilar, L.; Rodríguez, M.; Maldonado, I.; Martínez, R.; González, C.; Troncoso, R.; Lavandero, S.; Gingras, A.; Schwaeble, W.; Ferreira, A. *Trypanosoma cruzi* calreticulin: A possible role in Chagas' disease autoimmunity, *Molecular Immunology*, **2009**, *46*, 1092–1099.
22. Nunes, M.; Barbosa, M.; Ribeiro, L.; Barbosa, F.; Rocha, M. Ischemic cerebrovascular events in patients with Chagas cardiomyopathy: A prospective follow-up Study, *Journal of the Neurological Sciences*, **2009**, *278*, 96–101.
23. Tomich, C.; Sanches, S.; Taft, C. A molecular modeling and QSAR study of suppressors of the growth of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **2004**, *23*, 89–97.
24. Galvão, V.; Vivas, J. Modeling the Chagas' disease after stem cell transplantation, *Physica A*, **2009**, *388*, 1747–1754.
25. Ramsey, J.; Cruz, A.; Salgado, L.; Espinosa, L.; Ordoñez, R.; López, R.; Schofield, C. Efficacy of pyrethroid insecticides against domestic and peridomestic populations of *Triatoma pallidipennis* and *Triatoma barberi* (Reduviidae: Triatominae) vectors of Chagas' disease in Mexico. *Journal Medical Entomology*, **2003**, *40*, 912–20.
26. Freitas, R.; Prokopczyk, I.; Zottis, A.; Oliva, G.; Andricopulo, A.; Trevisan, M.; Vilegas, W.; Silva, M.; Montanari, C. Discovery of novel *Trypanosoma cruzi* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, *17*, 2476–2482.

27. Paula, F.; Dória, S.; Viana de Almeida, L.; Pasqualoto, K.; Costa, L. Molecular modeling studies and *in vitro* bioactivity evaluation of a set of novel 5-nitro-heterocyclic derivatives as anti-*T. cruzi* agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, doi:10.1016/j.bmc.2009.02.056.
28. Pascutti, M.; Campodonico, G.; García, F.; Manarin, R.; Bottasso, O.; Revelli, S.; Serra, E. Novel cytostatic activity of the trypanocidal drug Benznidazole, *International Immunopharmacology*, **2009**, *9*, 739–745.
29. Frayha, G; Smyth, J.; Gobert, J. The Mechanisms of Action of Antiprotozoal and Anthelmintic Drugs in Man, *Gen Pharmacology* **1997**, *28*, 273-299.
30. Espinoza-Fonseca, L.; Trujillo-Ferrara, J. Structural considerations for the rational design of selective anti-trypanosomal agents: The role of the aromatic clusters at the interface of triosephosphate isomerase dimer, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2005**, *328*, 922–928.
31. Téllez-Valencia, A.; Olivares-Illana, V.; Hernández-Santoyo, A.; Pérez-Montfort, R.; Costas, M.; Rodríguez-Romero, A.; López-Calahorra, F.; Tuena, M.; Gómez-Puyou, A. Inactivation of Triosephosphate Isomerase from *Trypanosoma cruzi* by an Agent that Perturbs its Dimer Interface, *Journal of Molecular Biology*, **2004**, *341*, 1355–1365.
32. Urbina, J. A. Chemotherapy of Chagas' Disease: The How and The Why, *Journal of Molecular Medicine*, **1999**, *77*, 332-338.
33. Michels, P. Compartmentation of glycolysis in trypanosomes: a potential target for new trypanocidal drugs, *Biology of the Cell*, **1988**, *64*, 157-164.
34. Nowicki, M.; Tulloch, L.; Worrall, L.; McNae, I.; Hannaert, V.; Michels, P.; Fothergill-Gilmore, L.; Walkinshaw, M.; Turnera, N. Design, synthesis and trypanocidal activity of lead compounds based on inhibitors of parasite glycolysis, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, *16*, 5050–5061.
35. Cazzulo, J. J. Proteinases of *Trypanosoma cruzi*: potential targets for the chemotherapy of Chagas disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2002**, *2*, 1261–71.
36. Urbina, J. A. New chemotherapeutic approaches for the treatment of Chagas disease (American Trypanosomiasis), *Expert Opinion in Therapeutic Patents*, **2003**, *13*, 661–669.
37. Caffrey, C. R.; Scory, S.; Steverding, D. Cysteine proteinases of trypanosoma parasites: novel targets for chemotherapy, *Current Drug Targets*, **2000**, *1*, 155–162.
38. Du, X.; Guo, C.; Hansell, E.; Doyle, P.; Caffrey, C.; Holler, T.; McKerrow, J.; Cohen, F. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2002**, *45*, 2695–2707.
39. Salmon-Chemin, L.; Buisine, E.; Yardley, V.; Kohler, S.; Debreu, M.; Landry, V.; Sergheraert, C.; Croft, S.; Krauth-Siegel, R.; Davioud-Chervet, E.. 2- and 3-substituted 1, 4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothione reductase and lipoamide dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: synthesis and correlation between redox cycling activities and *in vitro* cytotoxicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, *44*, 548–565.

40. Schmidt, A.; Krauth-Siegel, R. Enzymes of the trypanothione metabolism as targets for antitrypanosomal drug development, *Current Topics of Medicinal Chemistry*, **2002**, 2, 1239–1259.
41. Moreno, S.; Carnieri, E.; Docampo, R. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase by crystal violet, *Molecular and Biochemical Parasitology*, **1994**, 67(2), 313-320.
42. Lehninger, A.; Nelson, D.; Cox, M. Principios de Bioquímica tercera edición, *Ediciones Omega*, **2001**.
43. Protein Data Bank. Crystallographic analysis of the complex between triosephosphate isomerase from *Trypanosoma cruzi* and 3-(2-benzothiazolylthio)-1-propanesulfonic acid. Consultada en Junio de 2009. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=1SUX&bionumber=1>
44. Téllez-Valencia, A.; Ávila-Ríos, S.; Pérez-Montfort, R.; Rodríguez-Romero, A.; Tuena, M.; López-Calahorra, F.; Gómez-Puyou, A. Highly specific inactivation of triosephosphate isomerase from *Trypanosoma cruzi*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2002**, 295, 958–963.
45. Espinoza-Fonseca, L.; Trujillo-Ferrara, J. Exploring the possible binding sites at the interface of triosephosphate isomerase dimer as a potential target for anti-tripanosomal drug design, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2004**, 14, 3151–3154.
46. Espinoza-Fonseca, L.; Trujillo-Ferrara, J. Toward a rational design of selective multi-trypanosomatid inhibitors: A computational docking study, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16, 6288–6292.
47. Maldonado, E.; Soriano-García, M.; Moreno, A.; Cabrera, N.; Garza-Ramos, G.; Tuena, M.; Gómez-Puyou, A.; Pérez-Montfort, R. Differences in the Intersubunit Contacts in Triosephosphate Isomerase from Two Closely Related Pathogenic Trypanosomes, *Journal of Molecular Biology*, **1998**, 283, 193-203.
48. Aguilar, S. Síntesis de derivados bencimidazólicos con posible actividad antiparasitaria. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2007**.
49. Silverman, R. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, Second Edition, *Elsevier Academic Press*, **2004**, 24-34.
50. Wermuth C. The Practice of Medicinal Chemistry, *Elsevier Academic Press*, **1996**, 661-693.
51. Arroyo, S. V. Síntesis de nitrocarboxamidas aromáticas, Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, **2003**.
52. Elguero, J. The tautomerism of heterocycles, *Academic Press*, **1978**, 395-396, 425-426.
53. Lengauer, T.; Rarey, M. Computational methods for biomolecular docking, *Current Opinion in Structural Biology*, **1996**, 6, 402–406.
54. Kitchen, D.; Decornez, H.; Furr, J.; Bajorath, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nature Reviews. Drug Discovery*, **2004**, 3 (11), 935–49.

55. Romo, M. A. Tesis de Doctorado, Facultad de Química, UNAM, en proceso.
56. Autodock. Autodock 3.0. Consultada en Abril de 2009. URL: <http://autodock.scripps.edu/>
57. Tamayo, D. Escalamiento de la síntesis y desarrollo de una forma farmacéutica para el fasciolicida alfa, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2001**.
58. Kaplancikli, Z.; Turan-Zitouni, G.; Revial, G.; Guven, K. Synthesis and Study of Antibacterial and Antifungal Activities of Novel 2-[[Benzoxazole/benzimidazole-2-yl)sulfanyl]acetylamino]thiazoles, *Archives of Pharmacology Research*, **2004**, *11*, 1081-1085.
59. Turan-Zitouni, G.; Kaplancikli, Z. ; Yildiz, M.; Chevallet, P.; Kaya, D. Synthesis and antimicrobial activity of 4-phenyl/cyclohexyl-5-(1-phenoxyethyl)-3-[N-(2-thiazolyl)acetamido]thio-4H-1,2,4-triazole derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *40*, 607-613.
60. Turan-Zitouni, G.; Demirayak, S.; Özdemir, A. ; Kaplancikli, Z. ; Yildiz, M. Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl)thioacetylamino]thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *39*, 267-272.
61. Hernández-Martínez, A. Síntesis y actividad antiparasitaria de [5-cloro-6-(1-naftiloxi)-1H- bencimidazol-2-il]carbamato de metilo y de un derivado 1-metilado como profármaco potencial, Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, **2008**.
62. Casimiro-García, A. Síntesis de análogos del triclabendazol con actividad antihelmíntica potencial, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **1994**
63. Beilstein Organische Chemie. Band XII, **1971**, 734.
64. Breitmaier, E. Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry, A Practical Guide, *John Wiley and Sons*, **2002**, 51-53
65. Advanced Chemistry Development. ACD/ChemSketch Freeware 12.0. Consultada en Agosto de 2009. URL: <http://www.acdlabs.com/>

11. APÉNDICE

11.1. Constantes físicas y rendimientos de los compuestos finales sintetizados

Tabla 11.1 Constantes físicas y rendimientos de los compuestos finales							
Compuesto	PM	Rendimiento crudo (%)	Fase eluyente en la columna	Rendimiento recrystalizado (%)	Sistema de elución ^a	R _f	pf (°C)
B7	466.0	90.6	AcOEt	56.1	V	0.13	132.3-133.0 (d)
B8	511.0	85.1	AcOEt	24.8	III	0.63	121.4-122.7 (d)
B9	480.0	87.2	Hexano/AcOEt 50 : 50	22.7	VII	0.33	193.1-194.5 (d)
B10	480.0	76.2	DMF ^b	56.8	IV	0.40	229.7-231.3 (d)
B12	525.0	92.9	Acetona	59.1	III	0.61	223.6-225.1 (d)

^a Sistemas de elución en página 44
^b No se separó por columna, sólo se decoloró con carbón activado en el disolvente mencionado (d). Funde con descomposición

11.2. Constantes físicas y rendimientos de los precursores sintetizados

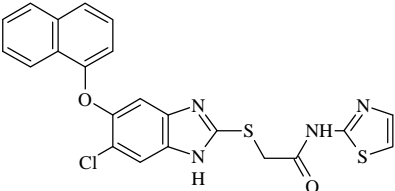
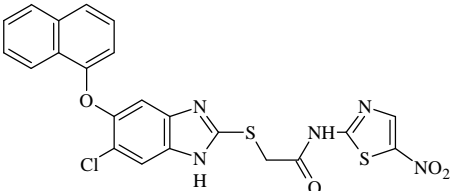
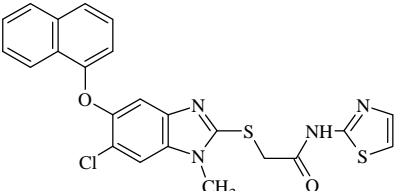
Tabla 11.2 Constantes físicas y rendimientos de los compuestos precursores sintetizados										
Compuesto	PM	Rendimiento crudo (%)	Disolvente de recrystalización	Rendimiento recrystalizado (%)	Sistema de elución ^a	R _f	pf informado (°C)	pf experimental (°C)		
1	204.1	98.6	EtOH	86.4	I	0.16	121-122 ⁵⁷	121.5-122.7		
2	249.1	91.3	MeOH/H ₂ O	60.7	I	0.38	123-124 ⁵⁷	124.2-124.7		
3	207.0	97.7	EtOH	90.6	II	0.51	177-178 ⁵⁷	175.6-176.2		
4^b	314.7	70.7	MeOH	44.0	II	0.56	145-146 ⁵⁷	144.3-145.5		
4^c	314.7	98.2	MeOH	90.3	III	0.75	145-146 ⁵⁷	144.9-145.6		
5	356.8	91.1	AcOEt	87.4	II	0.58	Ni	178.1-178.7		
6	284.7	90.1	-	-	IV	0.36	Ni	Nd		
7	326.8	80.3	CHCl ₃ /MeOH 80:20	76.4	IV	0.55	263-265 ⁵⁷	266.4-267.6		
8	176.6	70.0	CH ₃ CN	63.0	V	0.52	176.5- 177.7 ⁴⁸	176.3-177.2		
9	221.6	85.7	CH ₃ CN	69.1	V	0.45	157.1- 157.9 ⁴⁸	157.5-158.2		
10	263.1	90.2	EtOH	79.9	I	0.21	96.0-96.5 ⁶¹	96.9-97.4		
11	221.0	97.0	EtOH	75.6	I	0.63	148 ⁶³	148.4-148.9		

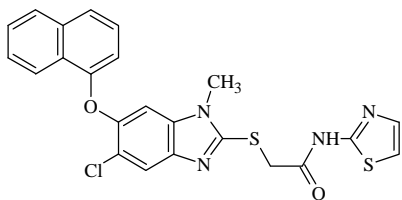
12	328.8	90.5	EtOH/AcOEt 80:20	69.2	VI	0.25	167-169 ⁶²	165.3-166.6
13	298.8	90.3	-	-	IV	0.39	Ni	Nd
14	340.8	85.1	EtOH/Acetona 50:50	75.6	IV	0.61	272-273 ⁶²	272.4-273.8

^a Sistemas de elución en página 44
^b Compuesto obtenido a partir de **3**
^c Compuesto obtenido a partir de **5**

(d). Funde con descomposición
Nd. No determinado
Ni. No informado

11.3. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos finales

Compuesto	Señales
 <p>2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)</p>	<p>Espectro 11 IR (KBr, cm⁻¹): 3374, 3171, 3054, 2932, 1686, 1560, 1391, 1324, 1159.</p> <p>Espectro 12 EM (FAB⁺) m/z: 467 ([M+1]⁺, 100%), 469 ([M+1]⁺+2, 48%).</p> <p>Espectro 13 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.364 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.622 (d, J_o = 5.6 Hz, 1H, H en C₂'); 7.208 (d, J_o = 3.6 Hz, 1H, H en C₅ del tiazol); 7.253 (s, 1H, H en C₇); 7.344 (t, J_o = 8.0 Hz, 1H, H en C₃'); 7.460 (d, J_o = 3.2 Hz, 1H, H en C₄ del tiazol); 7.542-7.582 (m, 2H, H en C₆' y H en C₇'); 7.602 (d, J_o = 6.4 Hz, 1H, H en C₄'); 7.702 (s, 1H, H en C₄); 7.935-7.958 (m, 1H, H en C₅'); 8.221-8.244 (m, 1H, H en C₈').</p>
 <p>2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)</p>	<p>Espectro 18 IR (KBr, cm⁻¹): 3255, 3148, 3054, 2909, 1708, 1546, 1354, 1307, 1260, 1232, 1181.</p> <p>Espectro 19 EM (FAB⁺) m/z: 512 ([M+1]⁺, 21%), 514 ([M+1]⁺+2, 9%).</p> <p>Espectro 20 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.446 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.625 (d, J_o = 7.6 Hz, 1H, H en C₂'); 7.249 (s, 1H, H en C₇); 7.353 (t, J_o = 8.0 Hz, 1H, H en C₃'); 7.562-7.603 (m, 2H, H en C₆' y H en C₇'); 7.632 (d, J_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₄'); 7.699 (s, 1H, H en C₄); 7.944-7.968 (m, 1H, H en C₅'); 8.218-8.242 (m, 1H, H en C₈'); 8.619 (s, 1H, H en C₄ del tiazol).</p>
 <p>2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)</p>	<p>Espectro 25 IR (KBr, cm⁻¹): 3430, 2931, 1690, 1576, 1260, 1230.</p> <p>Espectro 26 EM (FAB⁺) m/z: 481 ([M+1]⁺, 18%), 483 ([M+1]⁺+2, 8%).</p> <p>Espectro 27 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.694 (s, 3H, N-CH₃); 4.464 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.590 (d, J_o = 7.2 Hz, 1H, H en C₂'); 7.252 (d, J_o = 3.6 Hz, 1H, H en C₅ del tiazol); 7.364 (t, J_o = 8.0 Hz, 1H, H en C₃'); 7.510 (d, J_o = 3.6 Hz, 1H, H en C₄ del tiazol); 7.597-7.630 (m, 4H, H en C₄' , H en C₆' , H en C₇' y H en C₇); 7.787 (s, 1H, H en C₄); 7.971-7.994 (m, 1H, H en C₅'); 8.317-8.341 (m, 1H, H en C₈'); 12.517 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CO).</p>

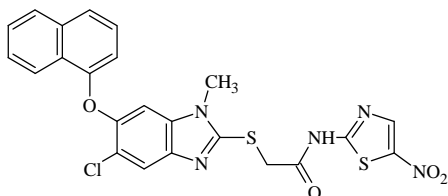


2-([5-Chloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio)-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (**B10**)

Espectro 32 IR (KBr, cm^{-1}): 3408, 2919, 1692, 1582, 1365, 1392, 1174.

Espectro 33 EM (FAB⁺) m/z : 481 ($[\text{M}+1]^+$, 15%), 483 ($[\text{M}+1]^+ + 2$, 8%).

Espectro 34 RMN ^1H (DMSO- d_6) δ : 3.658 (s, 3H, N- CH_3); 4.414 (s, 2H, S- CH_2 -CO); 6.547-6.807 (m, 1H, H en C_2'); 6.915 (dd, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 2.0$ Hz, 1H, H en C_4'); 7.214 (t, $J_o = 3.6$ Hz, 1H, H en C_3'); 7.310-7.380 (m, 1H, H en C_5 del tiazol); 7.463-7.644 (m, 4H, H en C_4 del tiazol, H en C_6' , H en C_7' y H en C_4); 7.756 (s, 1H, H en C_7); 7.936-7.959 (m, 1H, H en C_5'); 8.190-8.310 (m, 1H, H en C_8').



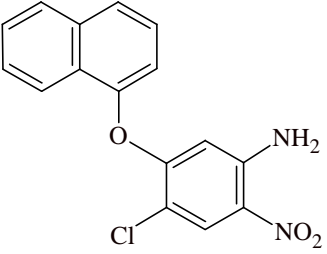
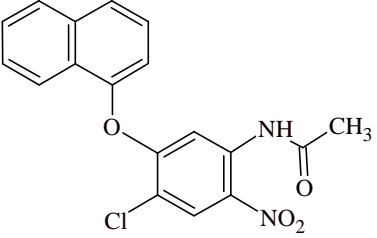
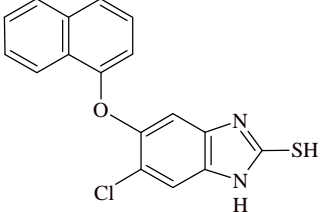
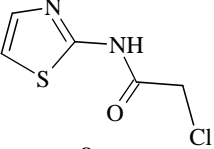
2-([5-Chloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**B12**)

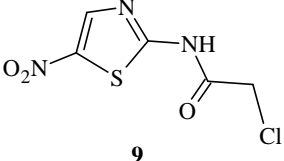
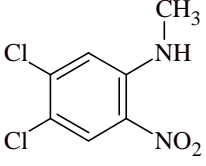
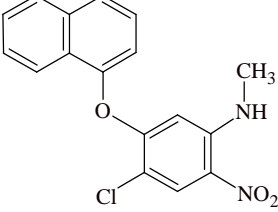
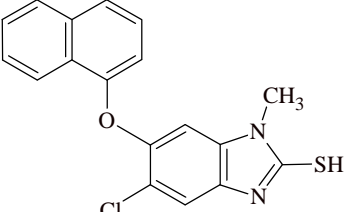
Espectro 38 IR (KBr, cm^{-1}): 3407, 3096, 2931, 2731, 1700, 1561, 1348, 1307, 1232, 1175.

Espectro 39 EM (FAB⁺) m/z : 526 ($[\text{M}+1]^+$, 3.5%), 528 ($[\text{M}+1]^+ + 2$, 1.5%).

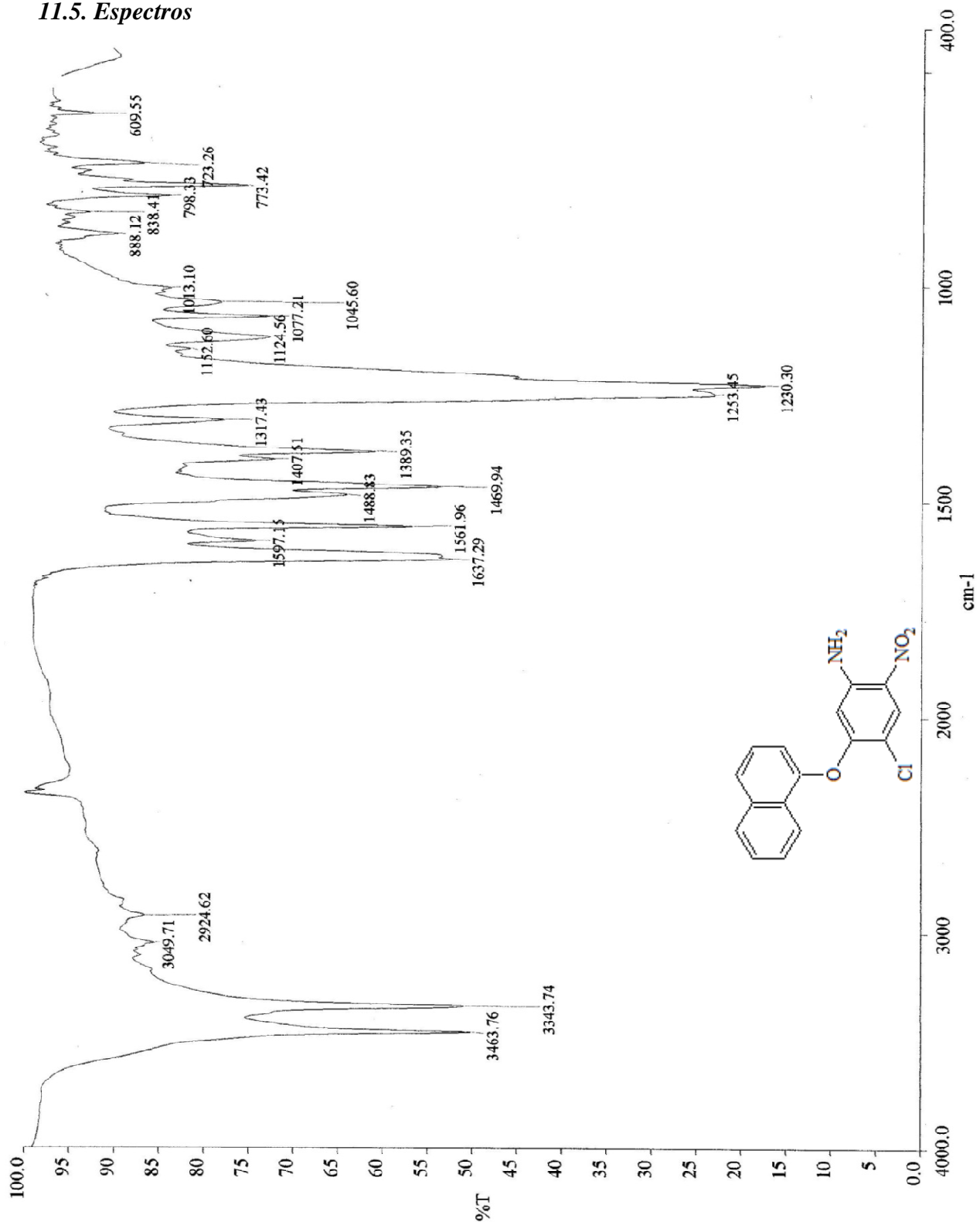
Espectro 40 RMN ^1H (DMSO- d_6) δ : 3.663 (s, 3H, N- CH_3); 4.487 (s, 2H, S- CH_2 -CO); 6.543-6.803 (m, 1H, H en C_2'); 6.905 (dd, $J_o = 8.4$ Hz, $J_m = 2.0$, 1H, H en C_4'); 7.309-7.399 (m, 1H, H en C_3'); 7.501 (d, 1H, H en C_4); 7.563-7.643 (m, 2H, H en C_6' y H en C_7'); 7.732 (s, 1H, H en C_7); 7.934-7.958 (m, 1H, H en C_5'); 8.183-8.301 (m, 1H, H en C_8'); 8.624 (d, 1H, H en C_5 del tiazol)

11.4. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los precursores sintetizados

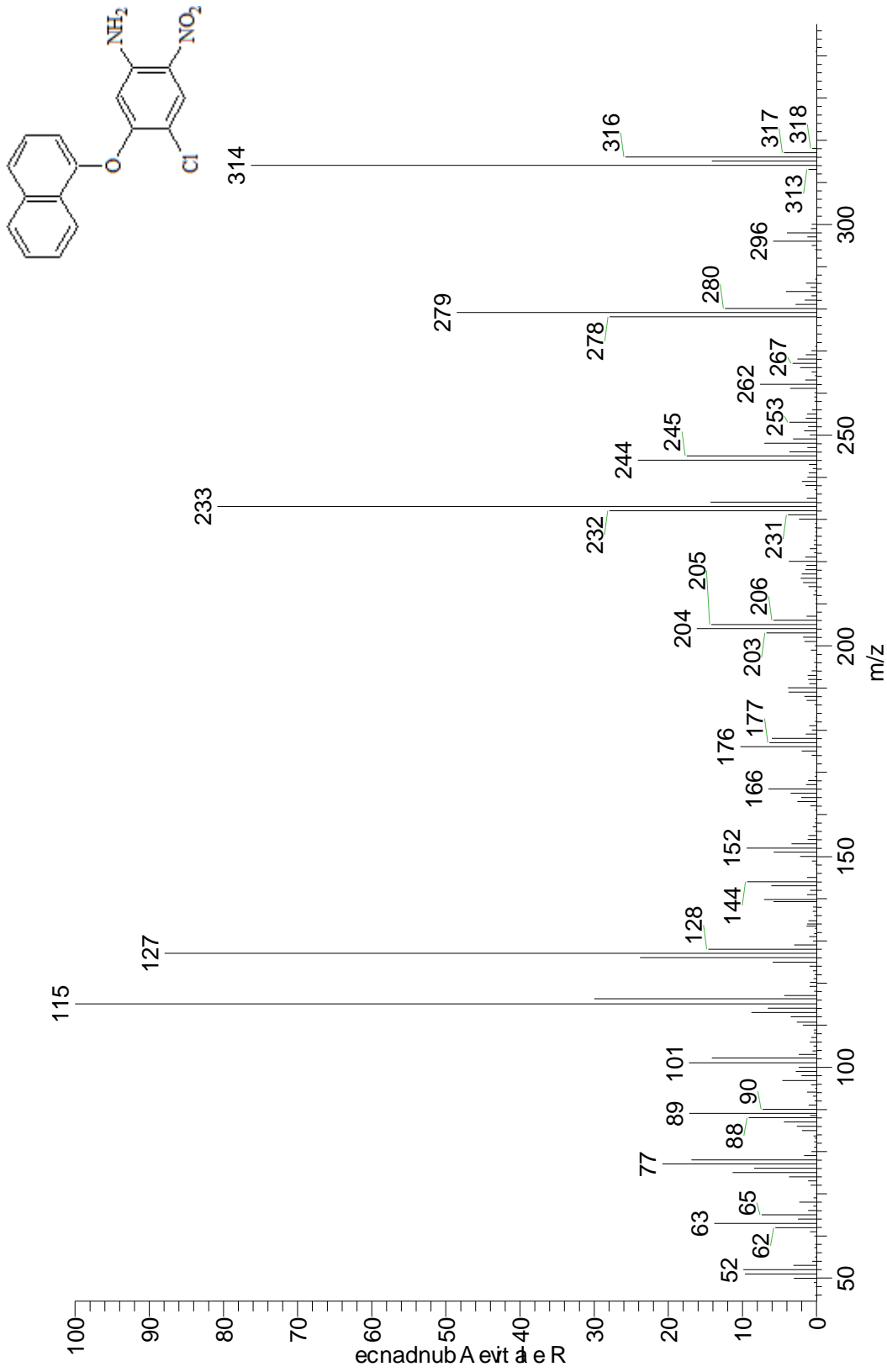
Compuesto	Señales
 <p style="text-align: center;">4 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4)</p>	<p>Espectro 1 IR (KBr, cm⁻¹): 3464, 3344, 3050-2925, 1632, 1561, 1317, 1230.</p> <p>Espectro 2 EM (GC) m/z: 314 (M⁺, 88%), 316 (M⁺+2, 26%).</p> <p>Espectro 3 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 6.211 (s, 1H, H en C₆); 7.359 (d, J_o = 7.6 Hz, 1H, H en C₂’); 7.412 (sa, 2H, int. D₂O, NH₂); 7.553-7.626 (m, 3H, H en C₃’, H en C₆’ y H en C₇’); 7.777 (d, J_o = 8.0 Hz, 1H, H en C₄’); 7.918 (d, J_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₅’); 8.048 (d, J_o = 8.8 Hz, 1H, H en C₈’); 8.170 (s, 1H, H en C₃).</p>
 <p style="text-align: center;">5 N-[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)</p>	<p>Espectro 6 IR (KBr, cm⁻¹): 3344, 3126-3053, 1720, 1579, 1335, 1267.</p> <p>Espectro 7 EM (GC) m/z: 356 (M⁺, 100%), 358 (M⁺+2, 32%).</p> <p>Espectro 8 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.478 (s, 3H, CO-CH₃); 7.067 (s, 1H, H en C₆); 7.341 (dd, J_o = 7.6 Hz, J_m = 0.8 Hz, 1H, H en C₂’); 7.552-7.635 (m, 3H, H en C₃’, H en C₆’ y H en C₇’); 7.828 (d, J_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₄’); 7.918 (d, J_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₅’); 8.052 (d, J_o = 7.2 Hz, 1H, H en C₈’); 8.291 (s, 1H, H en C₃); 10.175 (sa, 1H, int. D₂O, NH).</p>
 <p style="text-align: center;">7 5-Cloro-2-mercapto-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol (7)</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3053, 2600, 2000-1660, 1229.</p> <p>EM (CG) m/z: 326 (M⁺ 100%), 328 (M⁺+2, 49%), 291 ([M⁺-35], 63%)</p> <p>RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.501 (sa, 2H, int. D₂O, NH y SH); 6.912 (s, 1H, H en C₄); 6.420 (s, 1H, H en C₇); 6.634-8.284 (m, 7H, H en naftaleno).</p>
 <p style="text-align: center;">8 2-Cloro-N-(1,3-tiazol-2-il)acetamida</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3185, 2949, 2733, 1703, 1585, 1166.</p> <p>EM (GC) m/z: 176 (M⁺, 45%), 178 (M⁺+2, 15%).</p> <p>RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.447 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 7.201 (d, J_o = 3.6 Hz, 1H en C₄); 7.473 (d, J_o = 3.6 Hz, 1H en C₅); 11.366 (sa, 1H, int. D₂O, NH).</p>

 <p style="text-align: center;">9 2-Cloro-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3148, 2941, 2717, 1694, 1556, 1493, 1351, 1177. EM (GC) <i>m/z</i>: 221 (M⁺, 34%), 223 (M⁺ + 2, 13%). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.566 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 8.446 (s, 1H, H en C₄); 11.466 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CO).</p>
 <p style="text-align: center;">11 4,5-Dicloro-<i>N</i>-metil-2-nitroanilina (11)</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3400, 3080, 1620, 1580, 1520, 1485, 1380. EM (GC) <i>m/z</i>: 221 (M⁺, 34%), 223 (M⁺ + 2, 25%). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.981 (s, 3H, N-CH₃); 6.884 (s, 1H, H en C₆); 8.053 (s, 1H, H en C₃); 11.895 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CH₃).</p>
 <p style="text-align: center;">12 4-Cloro-<i>N</i>-metil-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (12)</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3380, 1640, 1570, 1500, 1230. EM (GC) <i>m/z</i>: 329 (M⁺, 100%), 331 (M⁺ + 2, 35%). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.534 (s, 3H, NH-CH₃); 6.057 (s, 1H, H en C₆); 7.124-8.014 (m, 7H, H en naftaleno); 8.335 (s, 1H, H en C₃); 11.501 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CH₃).</p>
 <p style="text-align: center;">14 5-Cloro-2-mercapto-1-metil-6-(1-naftiloxi)-bencimidazol (14)</p>	<p>IR (KBr, cm⁻¹): 3130, 3036, 2940, 2758, 1596, 1576, 1498, 1274. EM (IE) <i>m/z</i>: 341 (M⁺, 100%), 343 (M⁺ + 2, 43%). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.587 (s, 3H, N-CH₃); 6.502-8.931 (m, 7H, H en naftaleno); 7.349 (s, 1H, H en C₇); 7.415 (s, 1H, H en C₄); 12.453 (sa, 1H, int. D₂O, SH).</p>

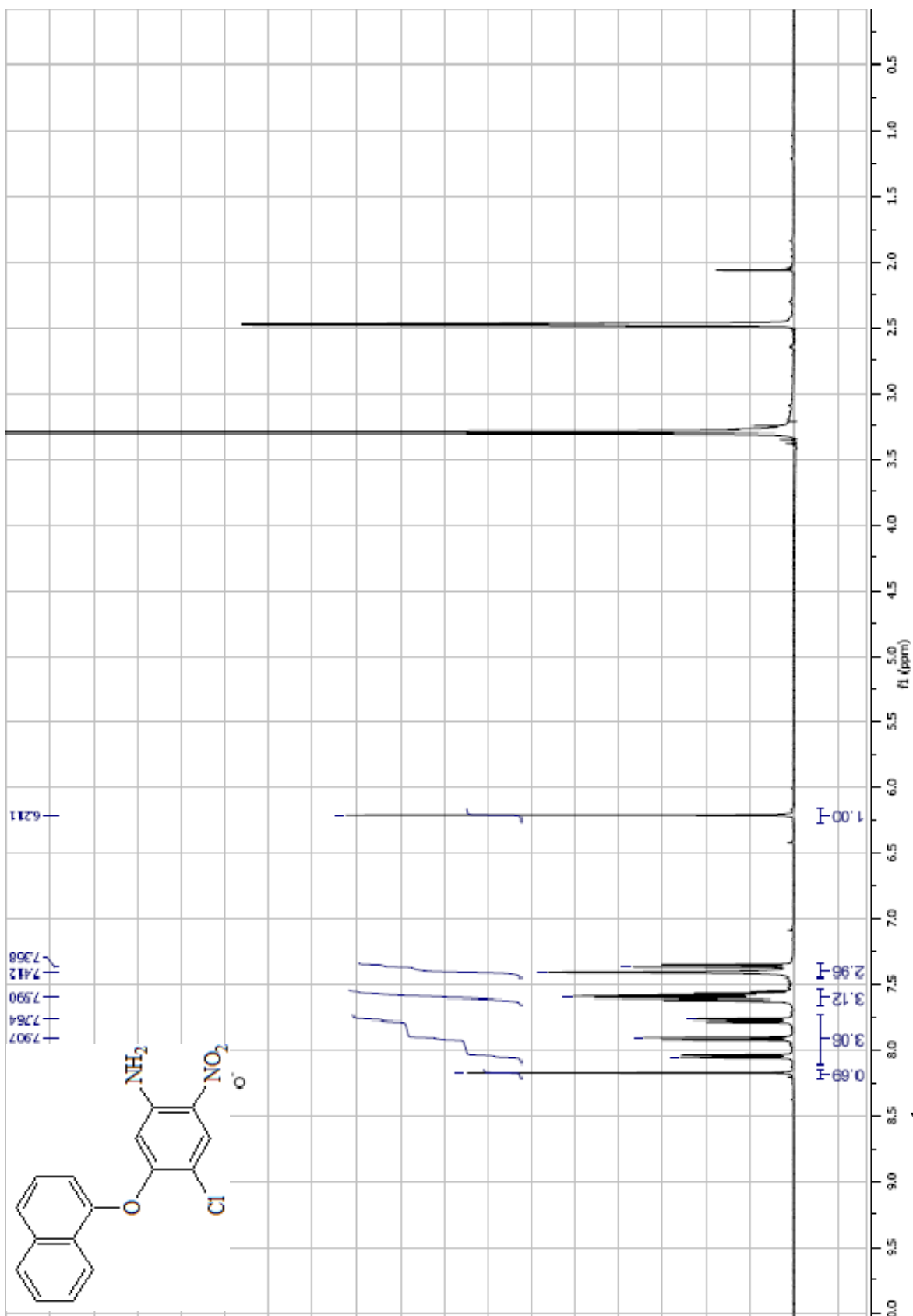
11.5. Espectros

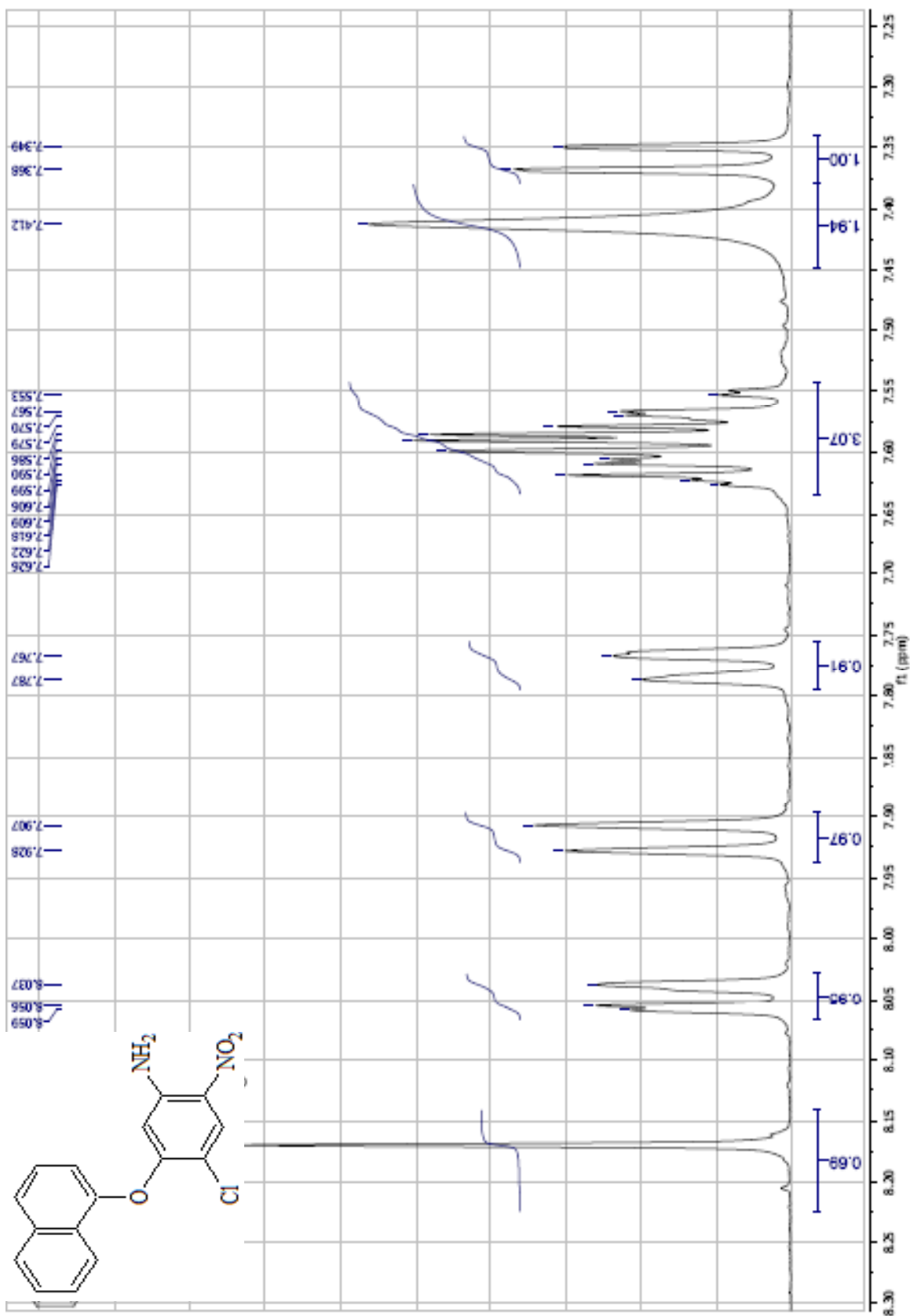


Espectro 1. IR (KBr) 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4)

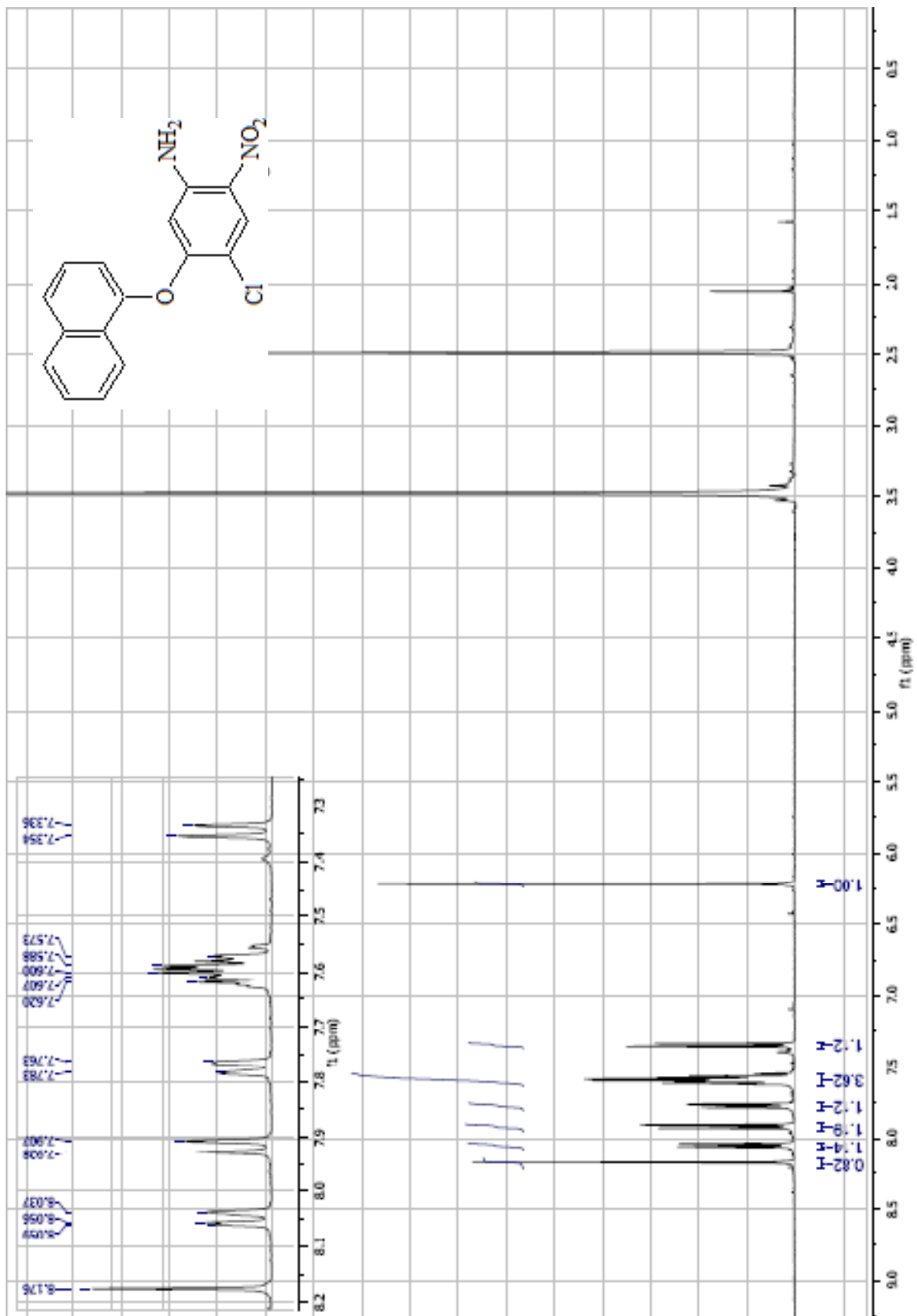


Espectro 2. EM (GC) 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4)

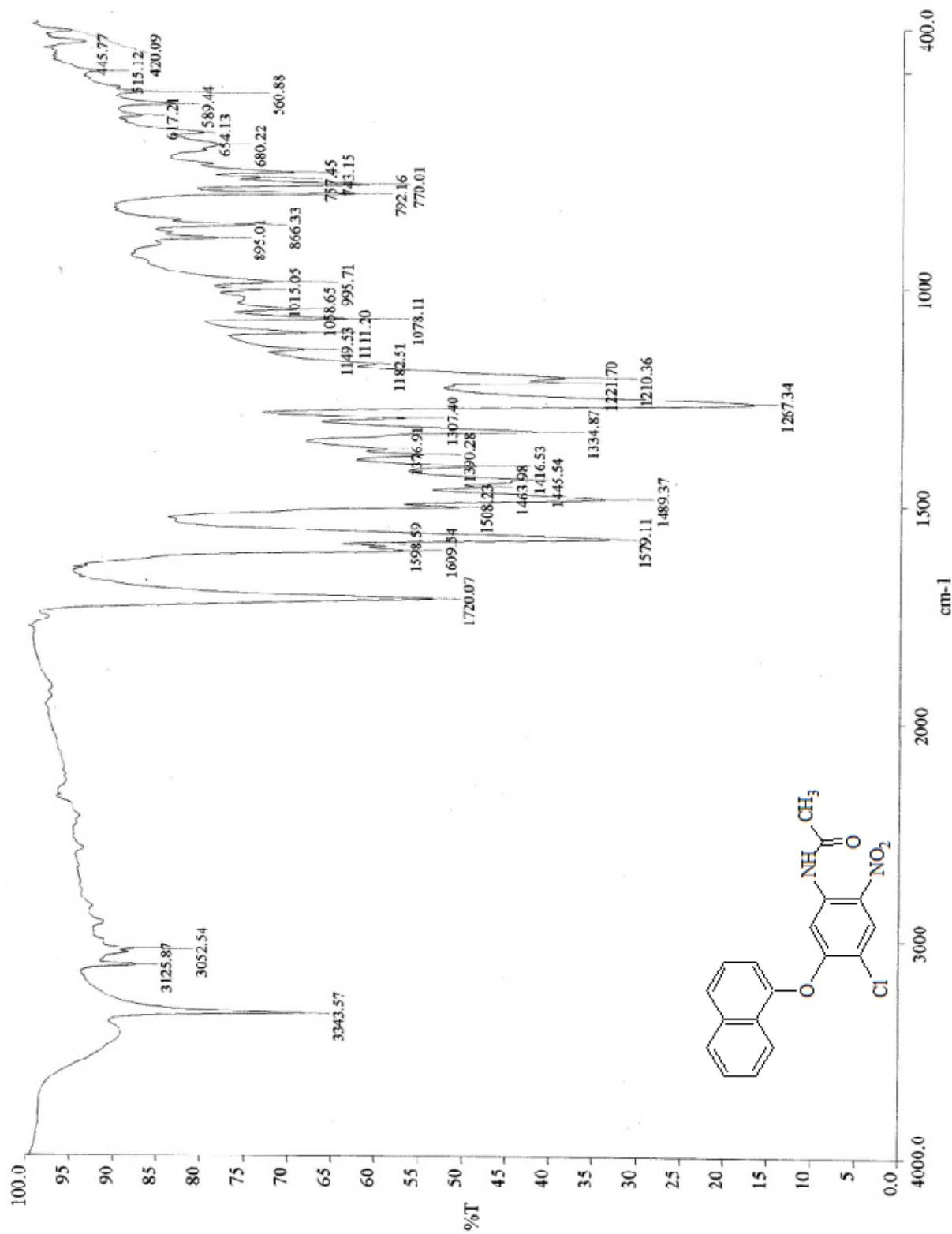




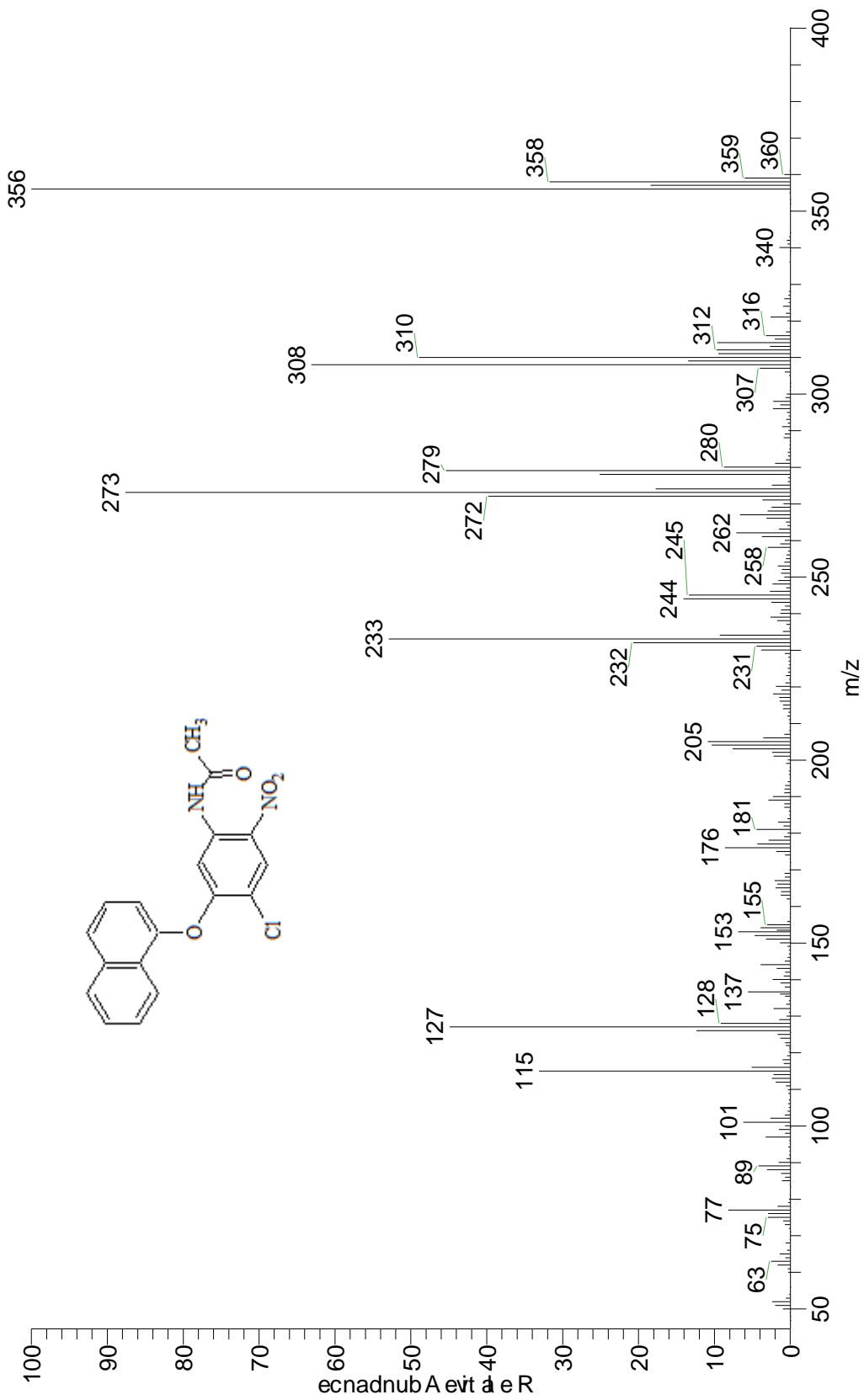
Espectro 4. Expansión de la RMN ¹H 4-Cloro-5-(1-nafiloxi)-2-nitroanilina (4)



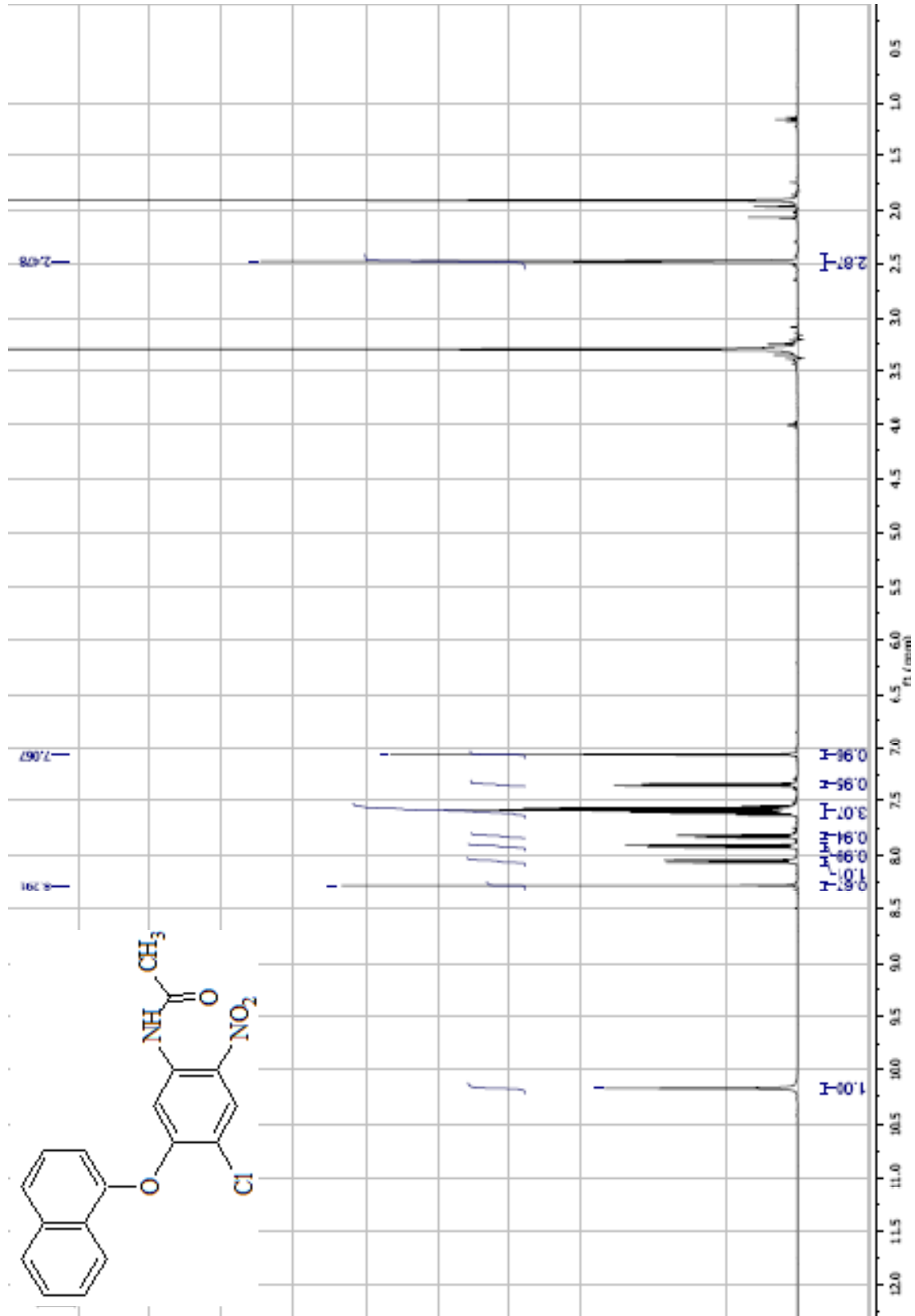
Espectro 5. Intercambio con D_2O de la RMN ^1H 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (4)



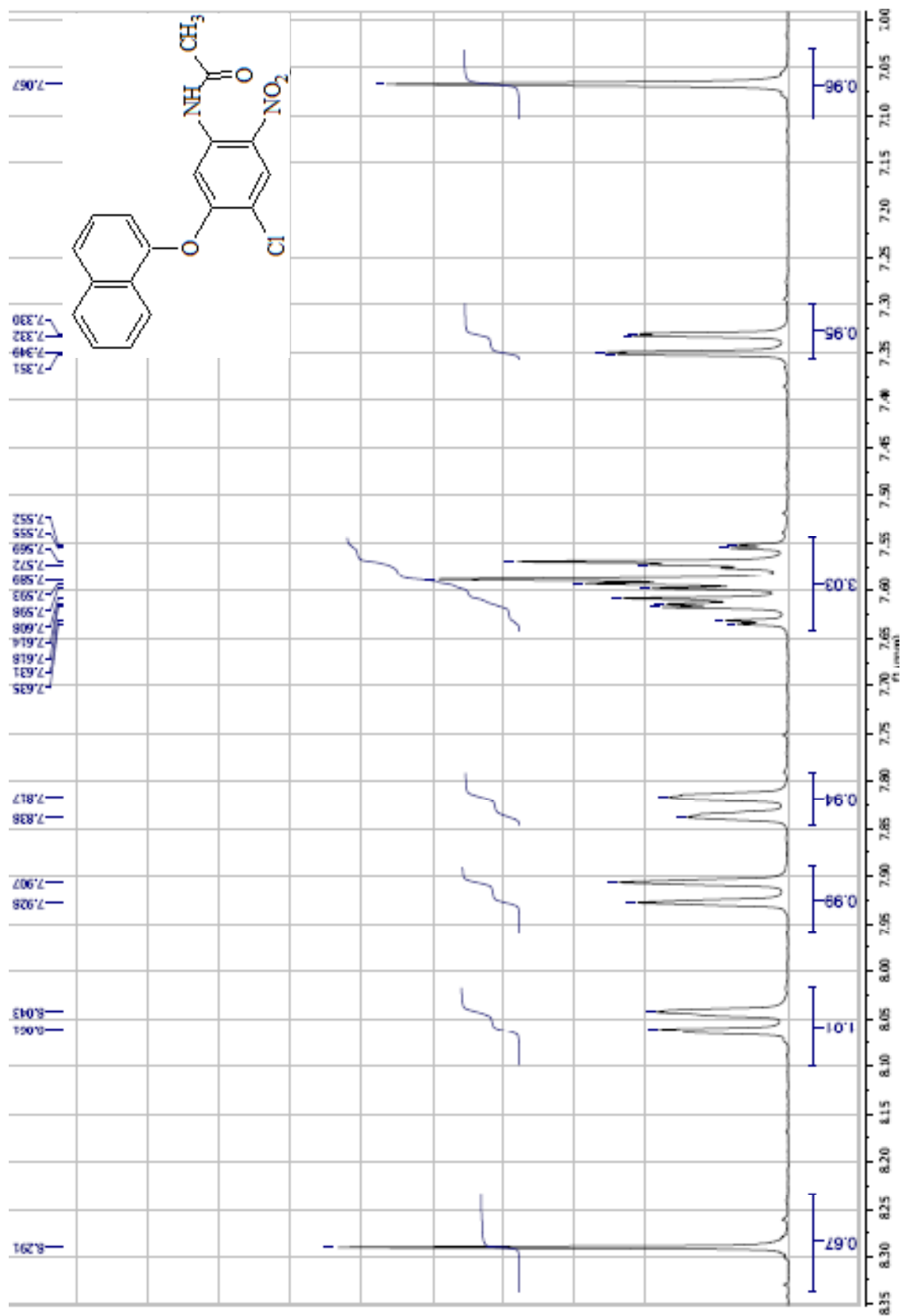
Espectro 6. IR (KBr) N-[4-Chloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)



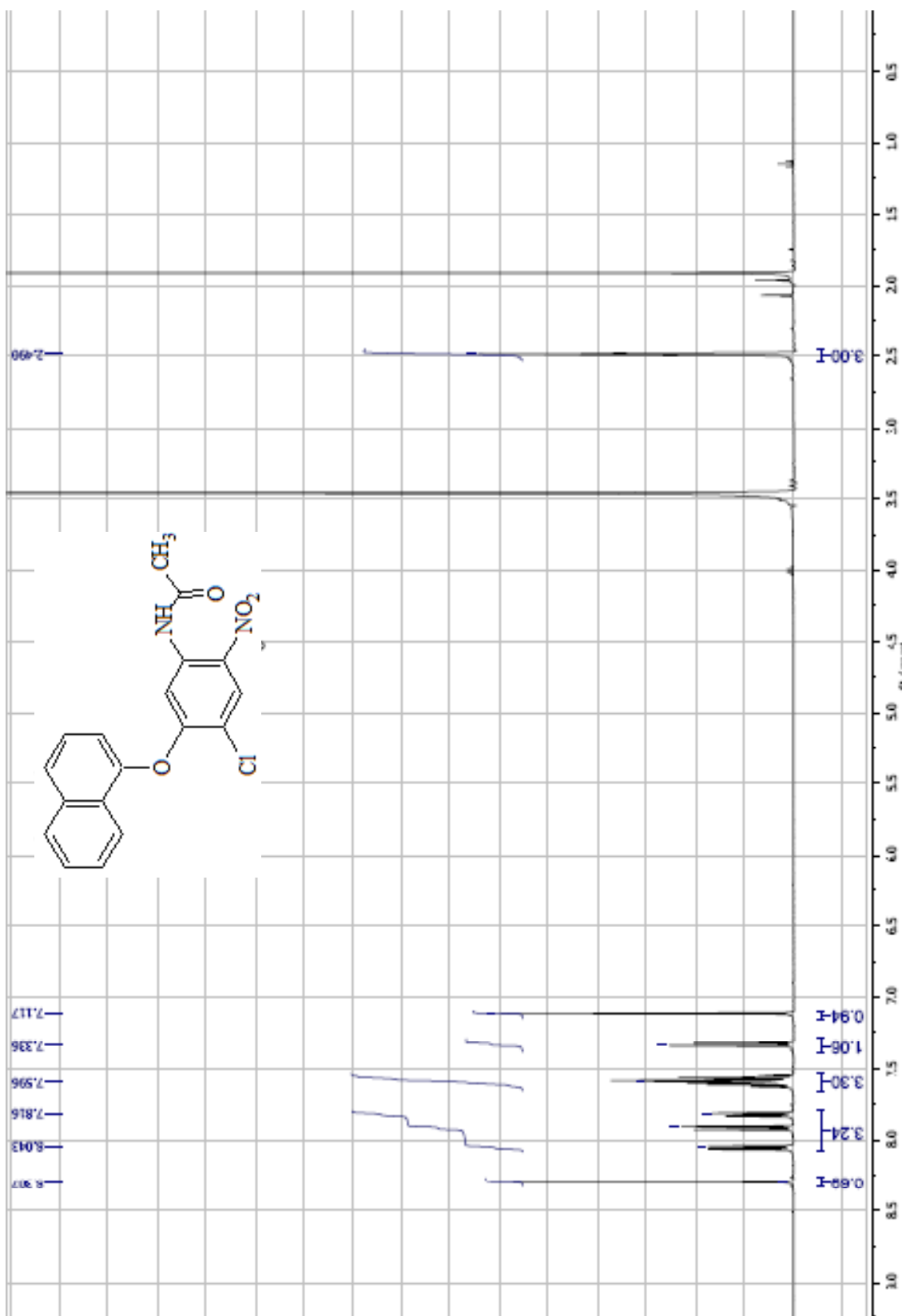
Espectro 7. EM (CG) N-[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)



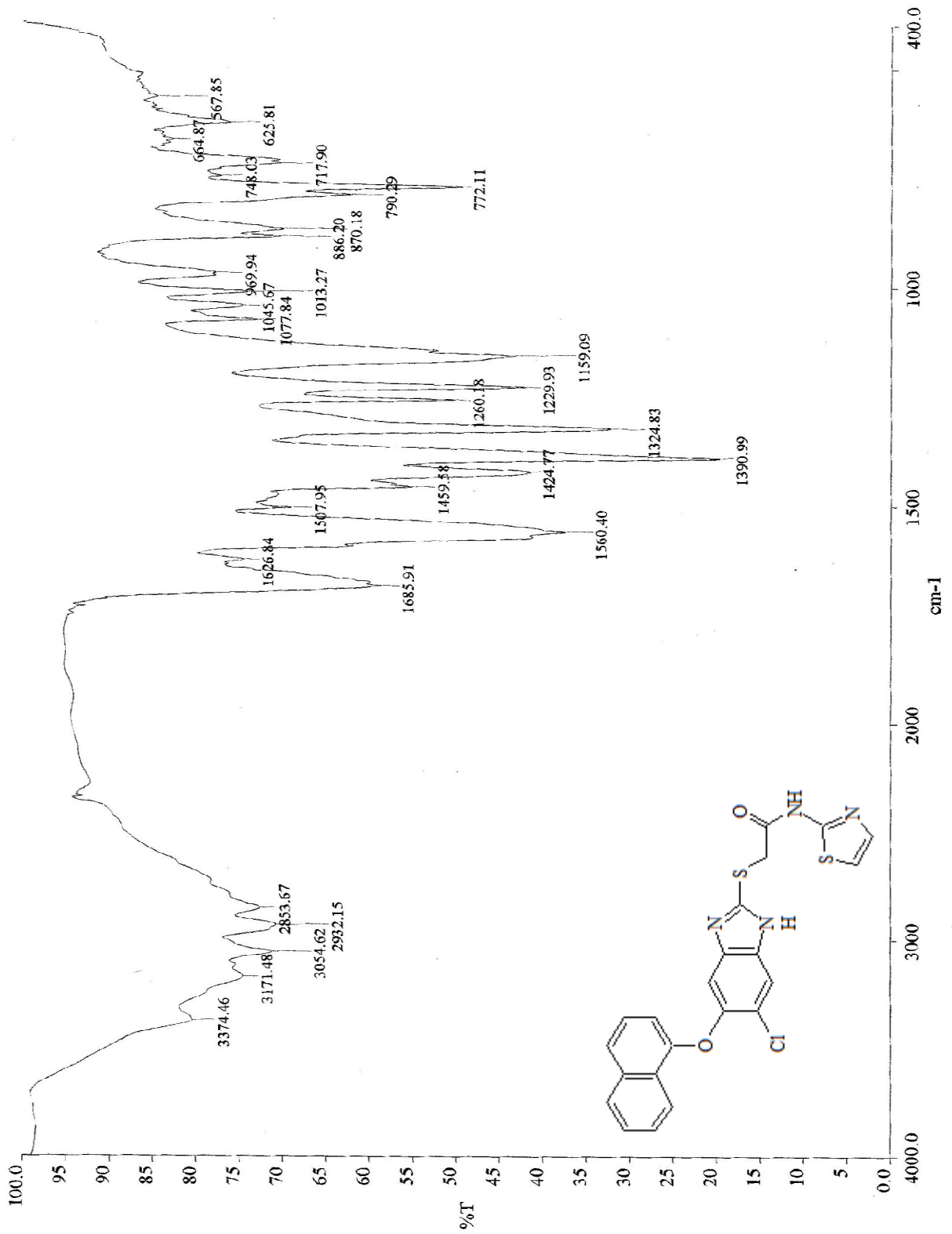
Espectro 8. RMN ¹H N-[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)



Espectro 9. Expansión de la RMN ^1H N-[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)

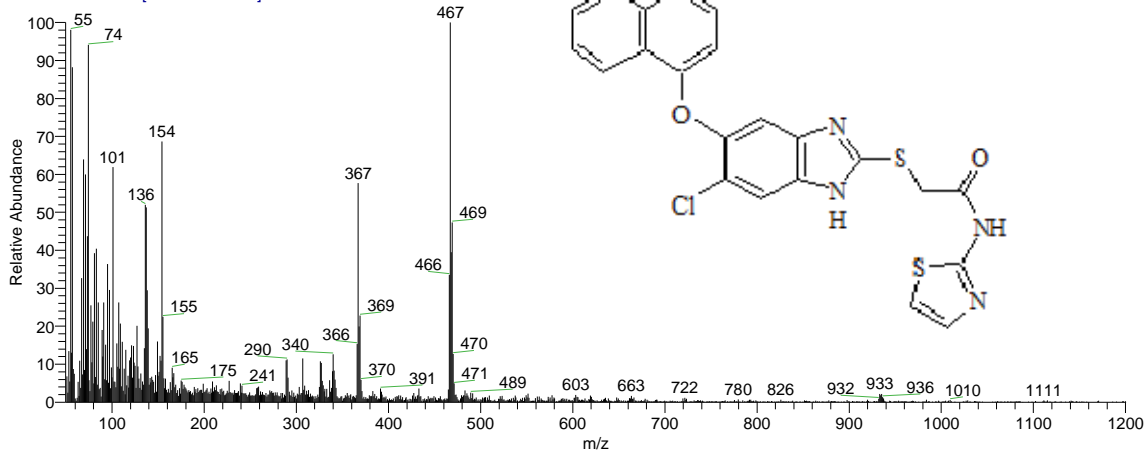


Espectro 10. Intercambio con D_2O de la RMN^1H *N*-[4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitrofenil]acetamida (5)

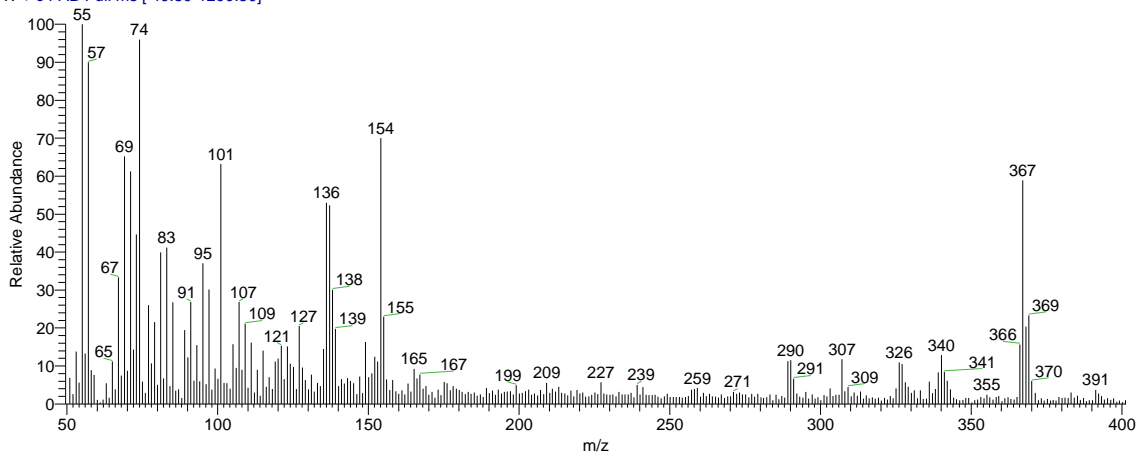


Espectro 11. IR (KBr) 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)

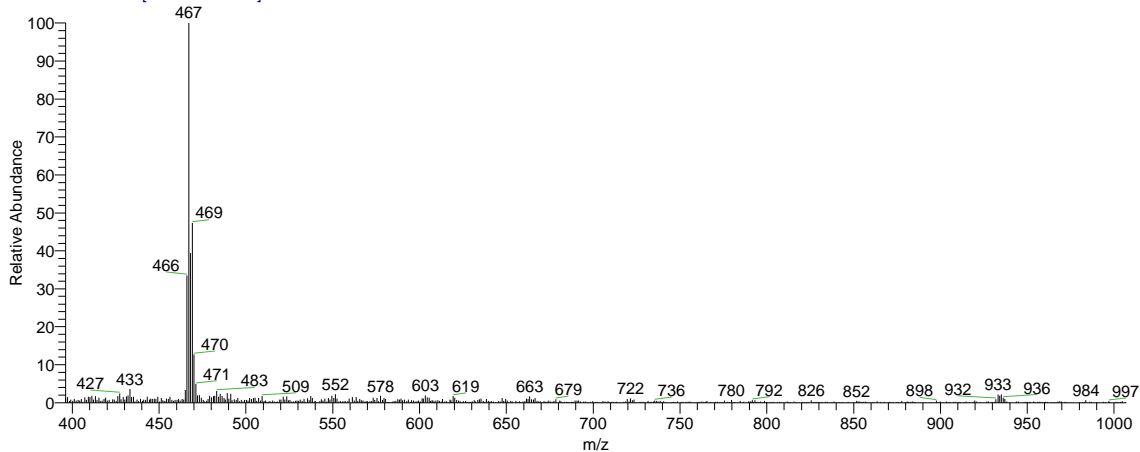
OT2816_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 1.03E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



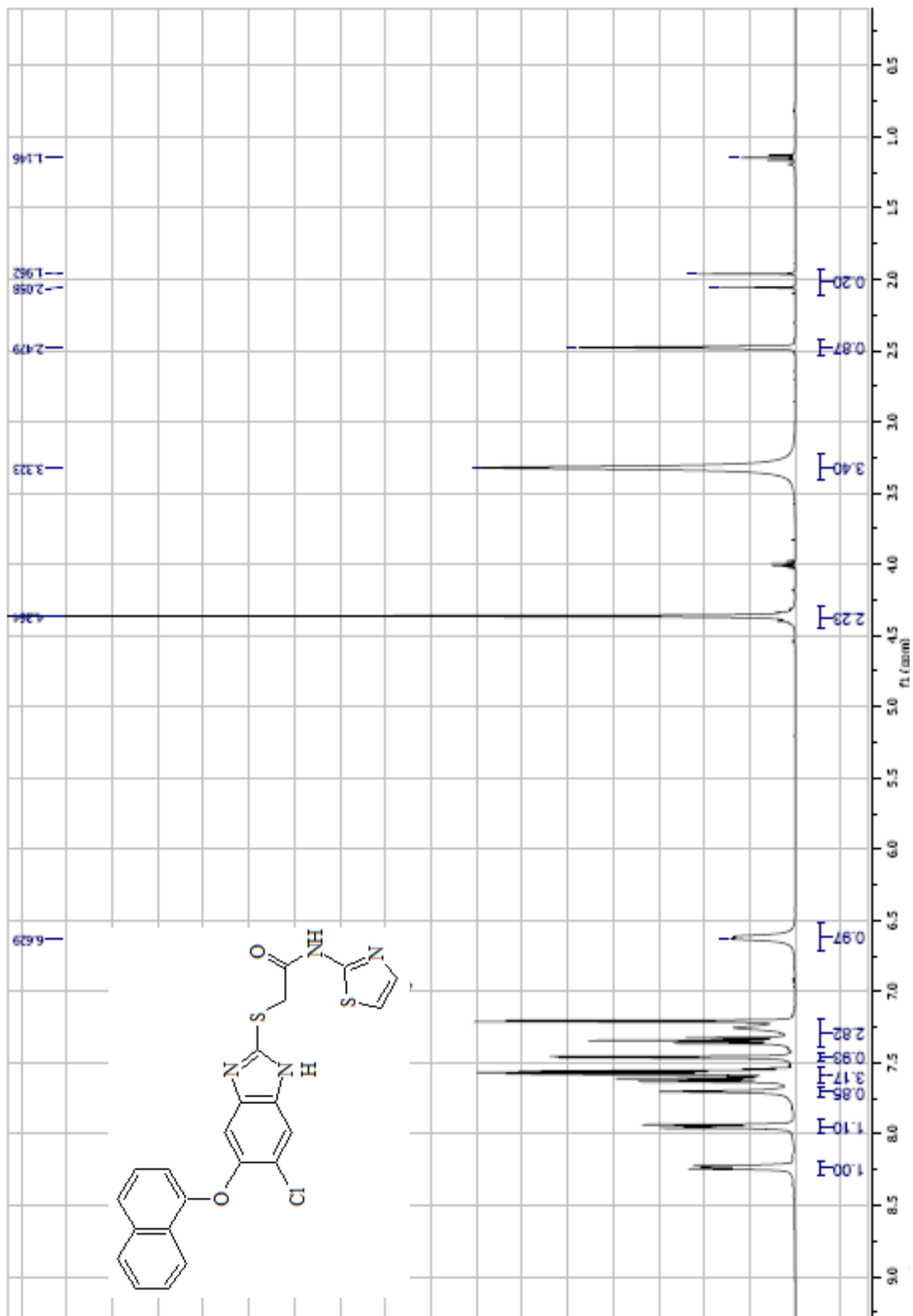
OT2816_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 1.01E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



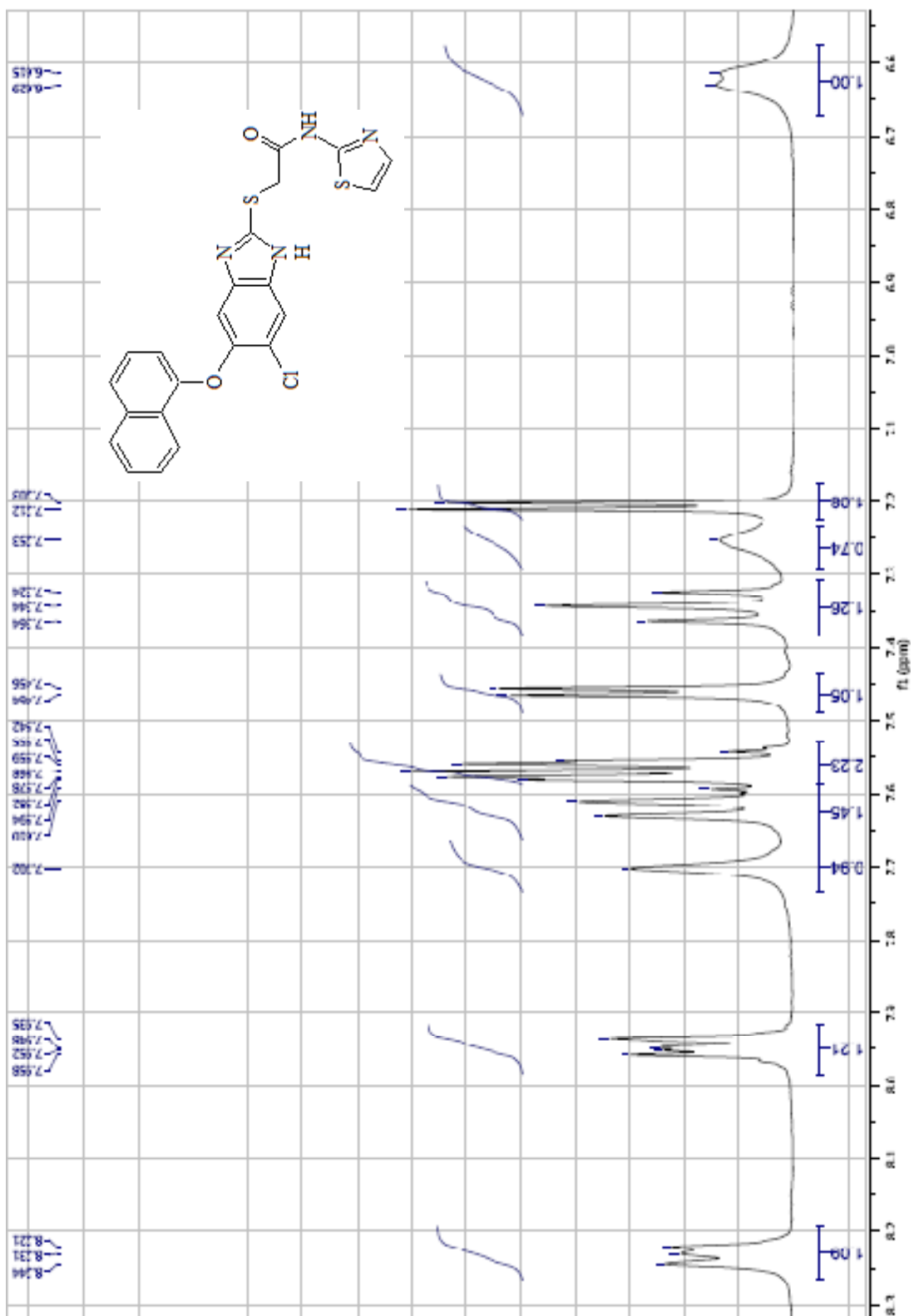
OT2816_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 1.03E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



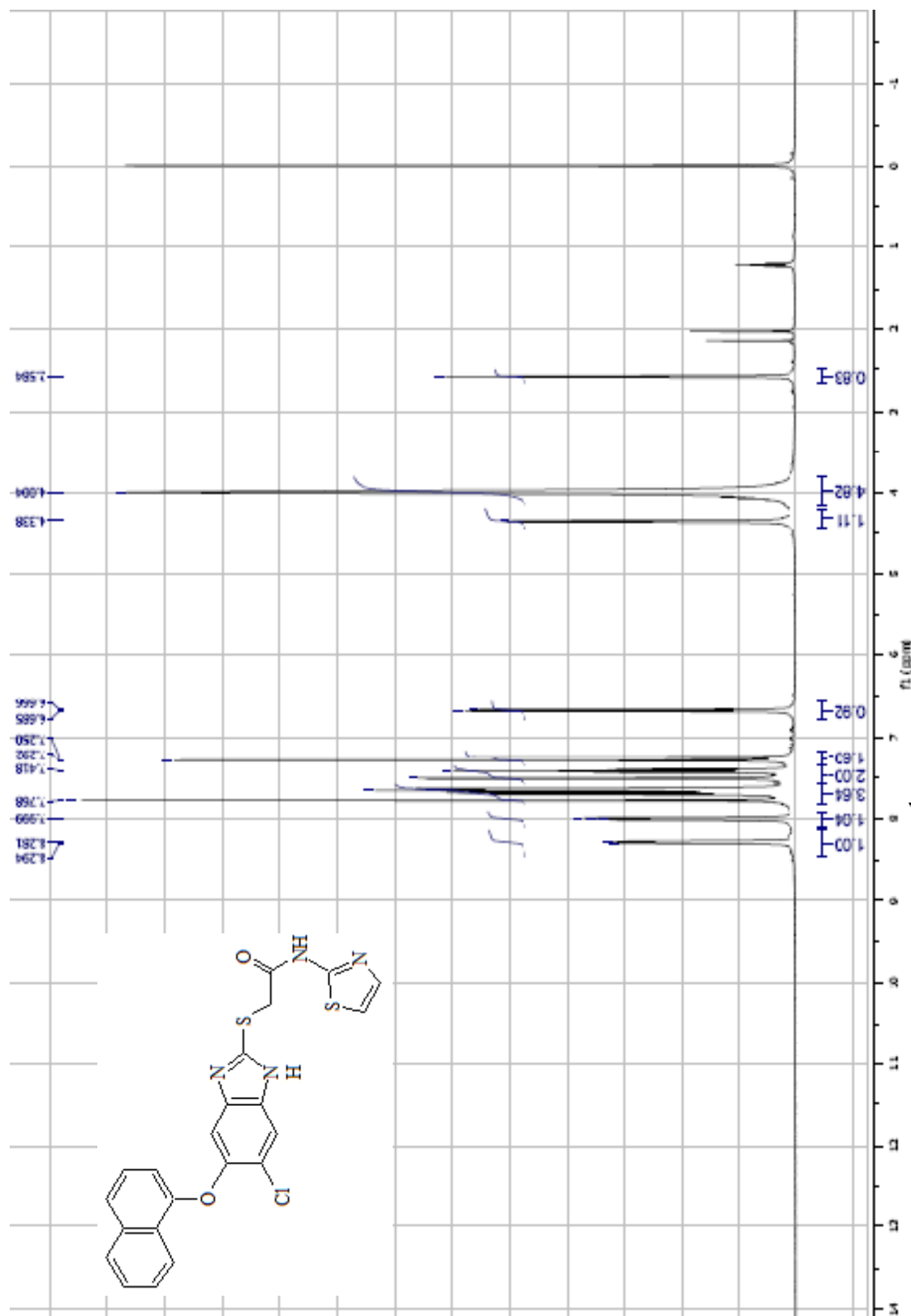
Espectro 12. EM (FAB⁺) 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)



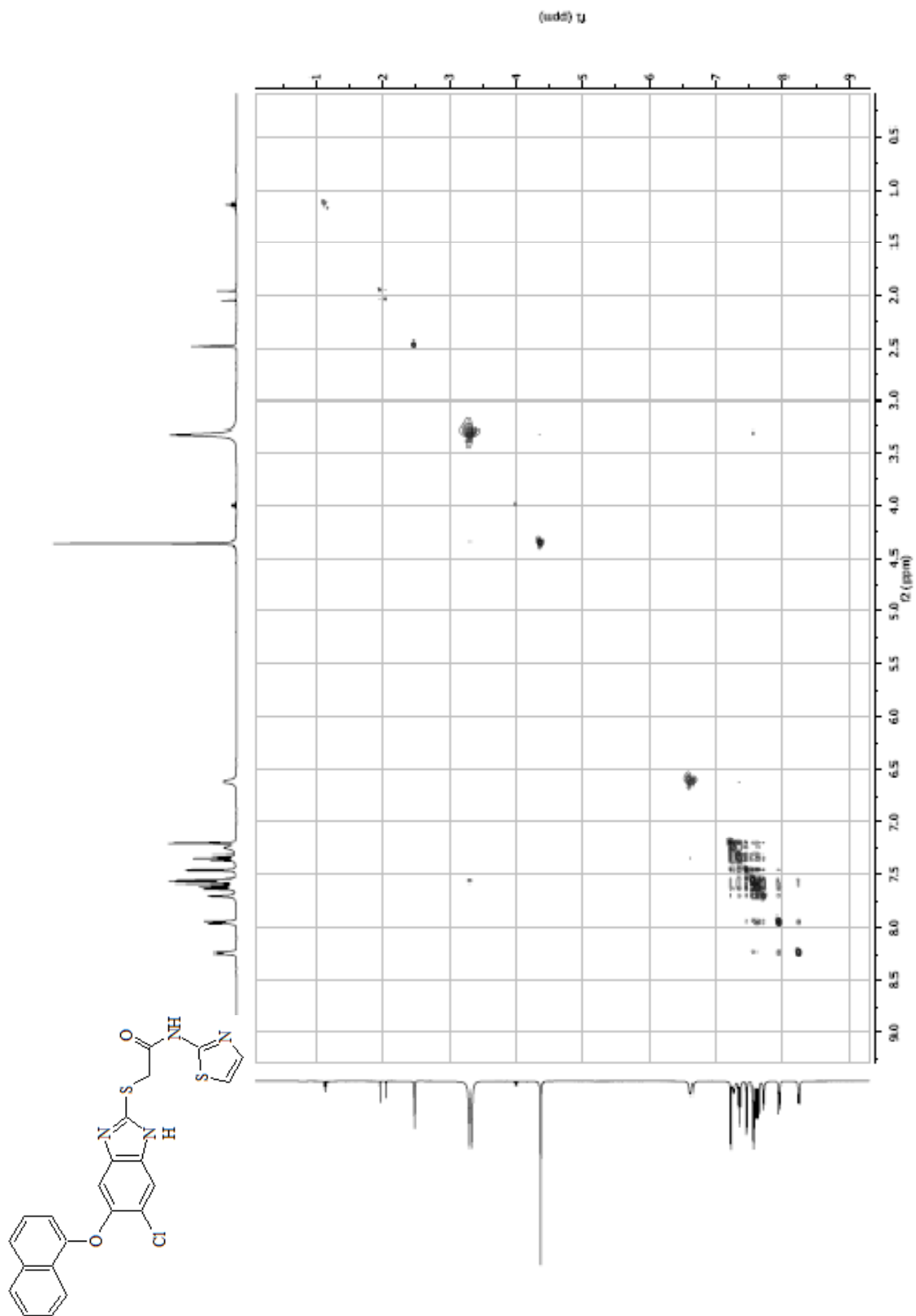
Espectro 13. RMN ¹H 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)



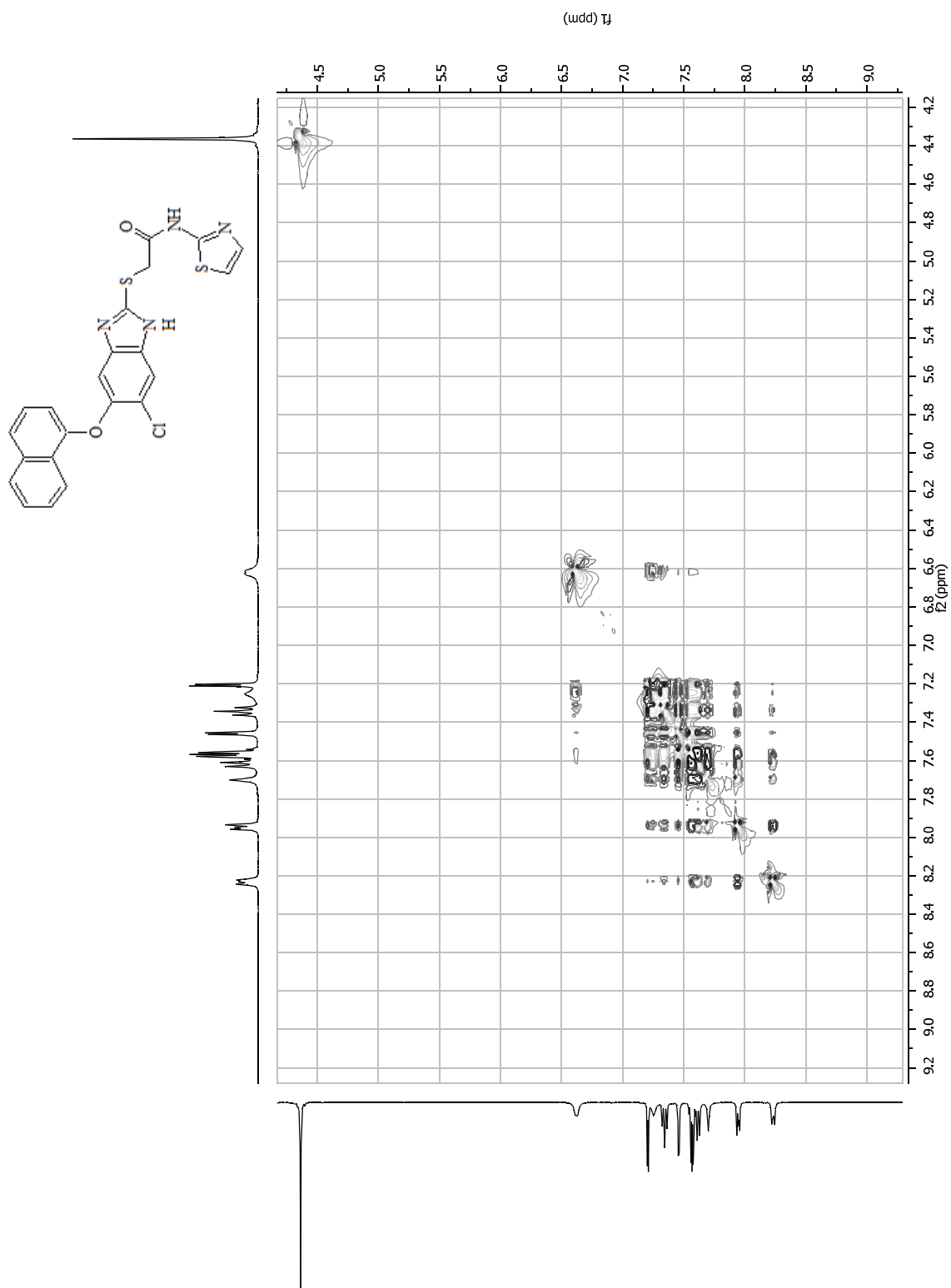
Espectro 14. Expansión de la RMN ¹H 2-[[6-Chloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)



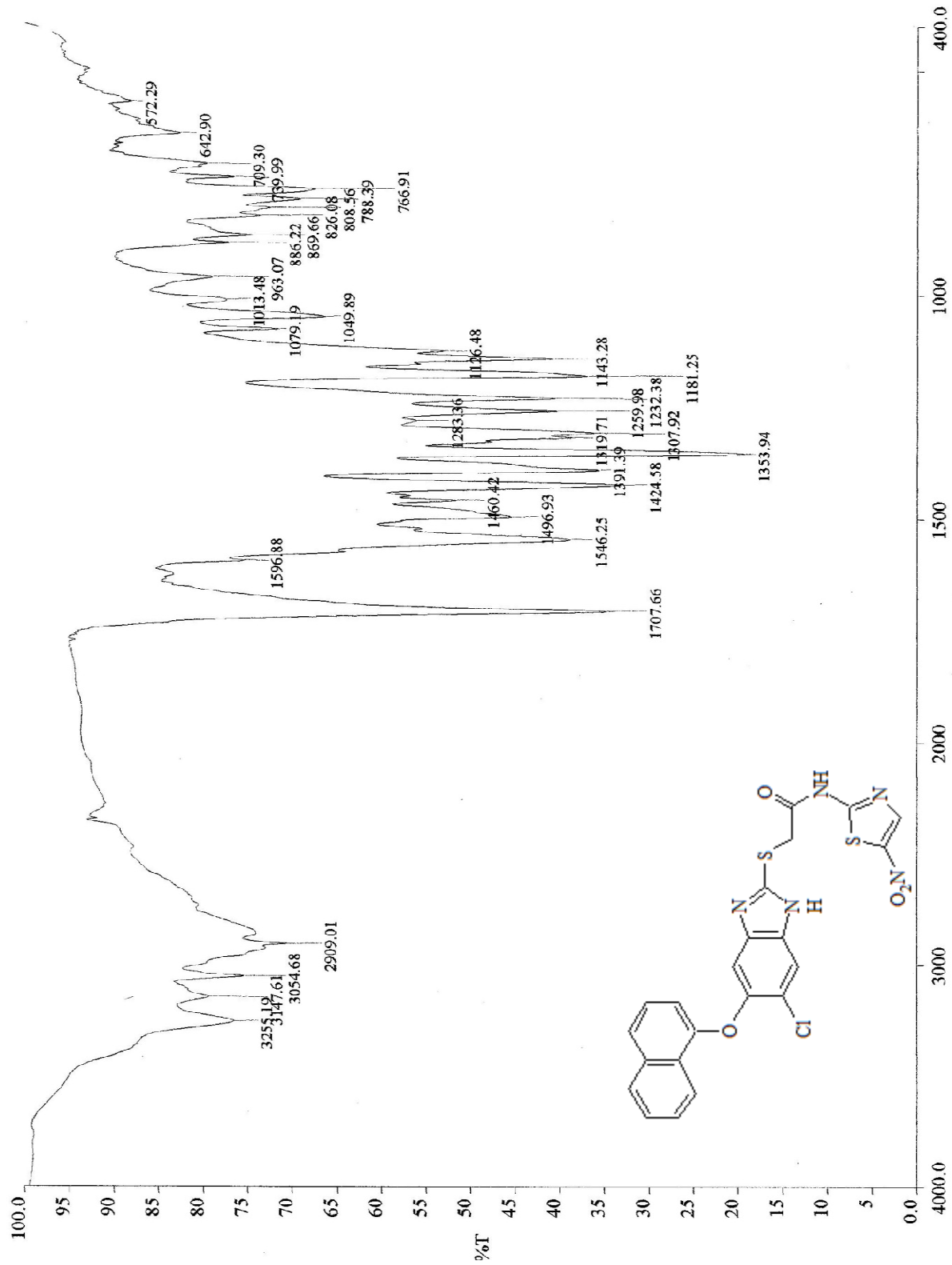
Espectro 15. Intercambio con D_2O de la RMN ^1H 2-[[6-cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-iltio]-N-1,3-tiazol-2-iacetamida (B7)



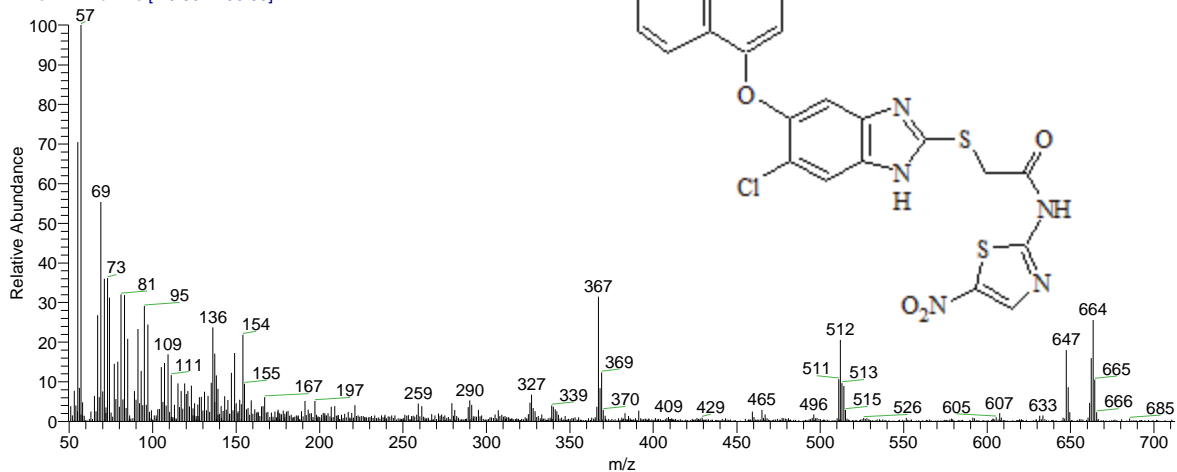
Espectro 16. NOESY 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)



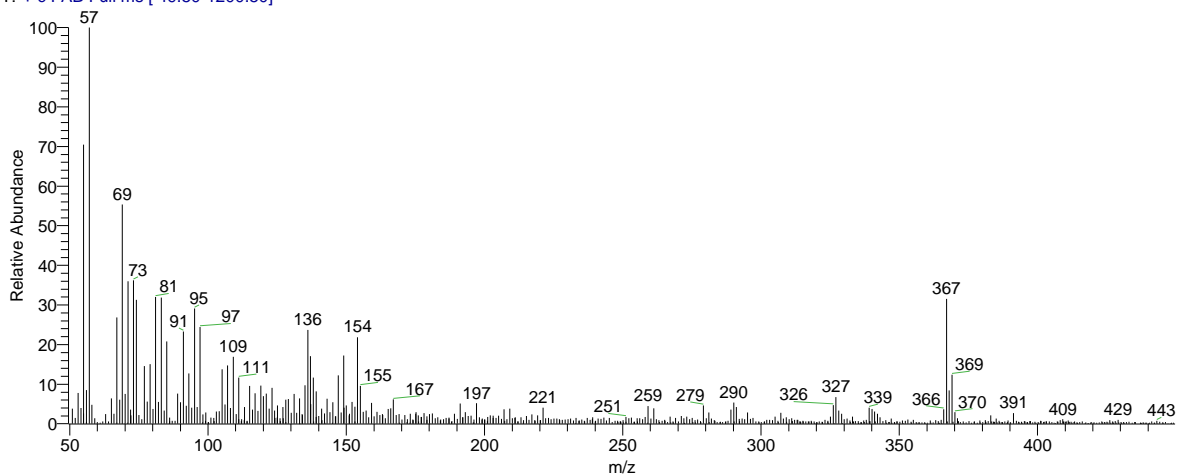
Espectro 17. Expansión NOESY 2-([6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-iltio)-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B7)



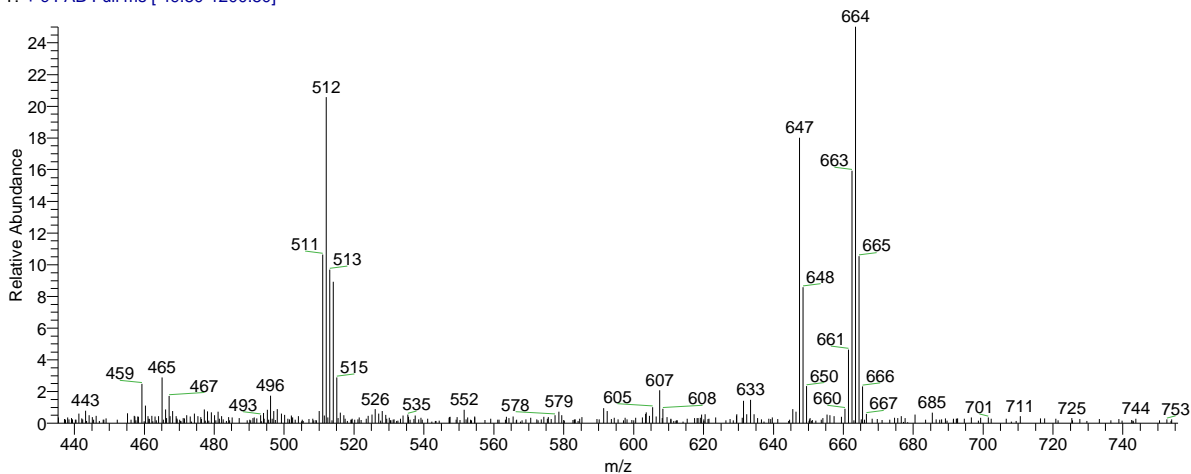
OT2817_1 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 2.09E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



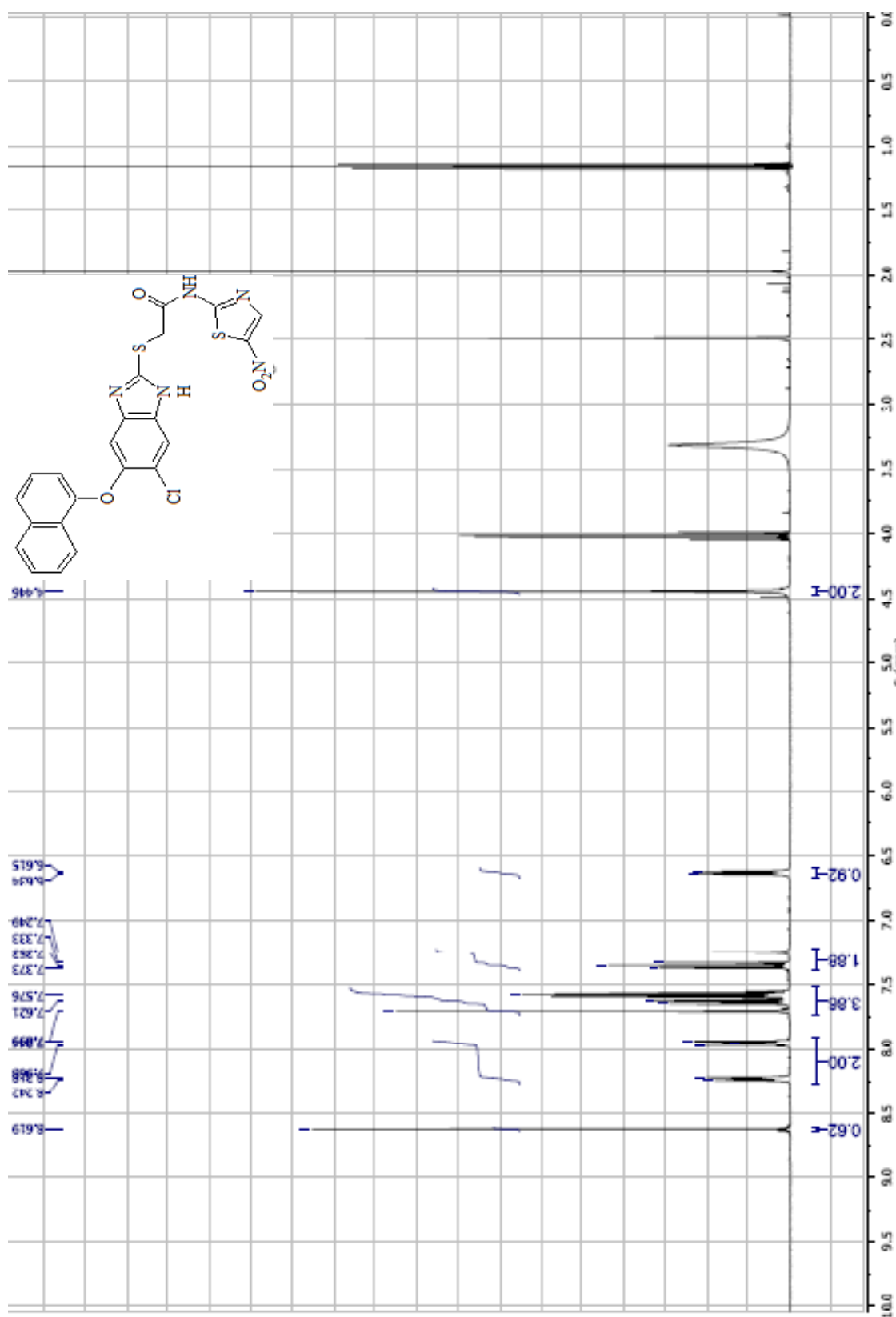
OT2817_1 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 2.09E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



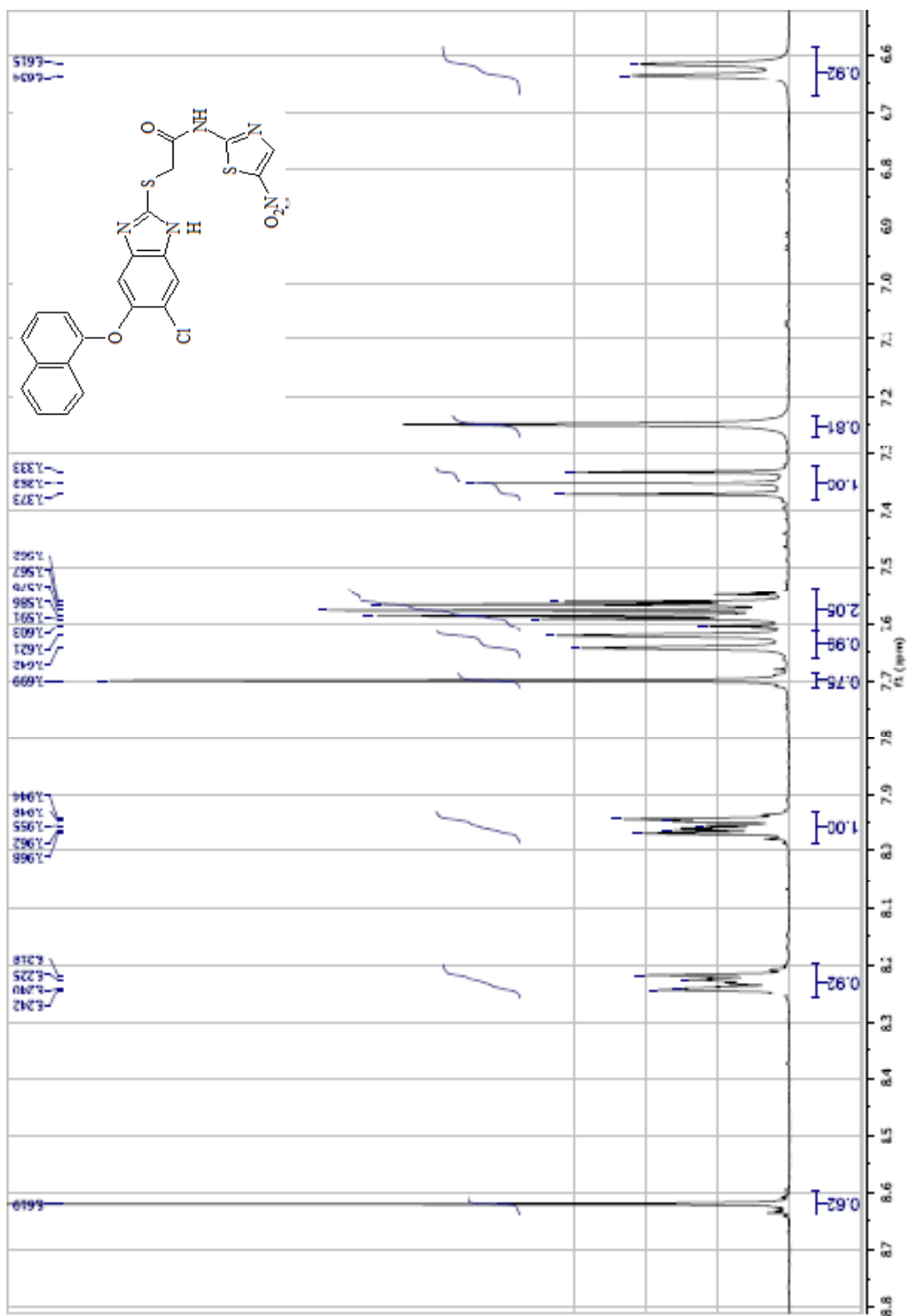
OT2817_1 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 2.09E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



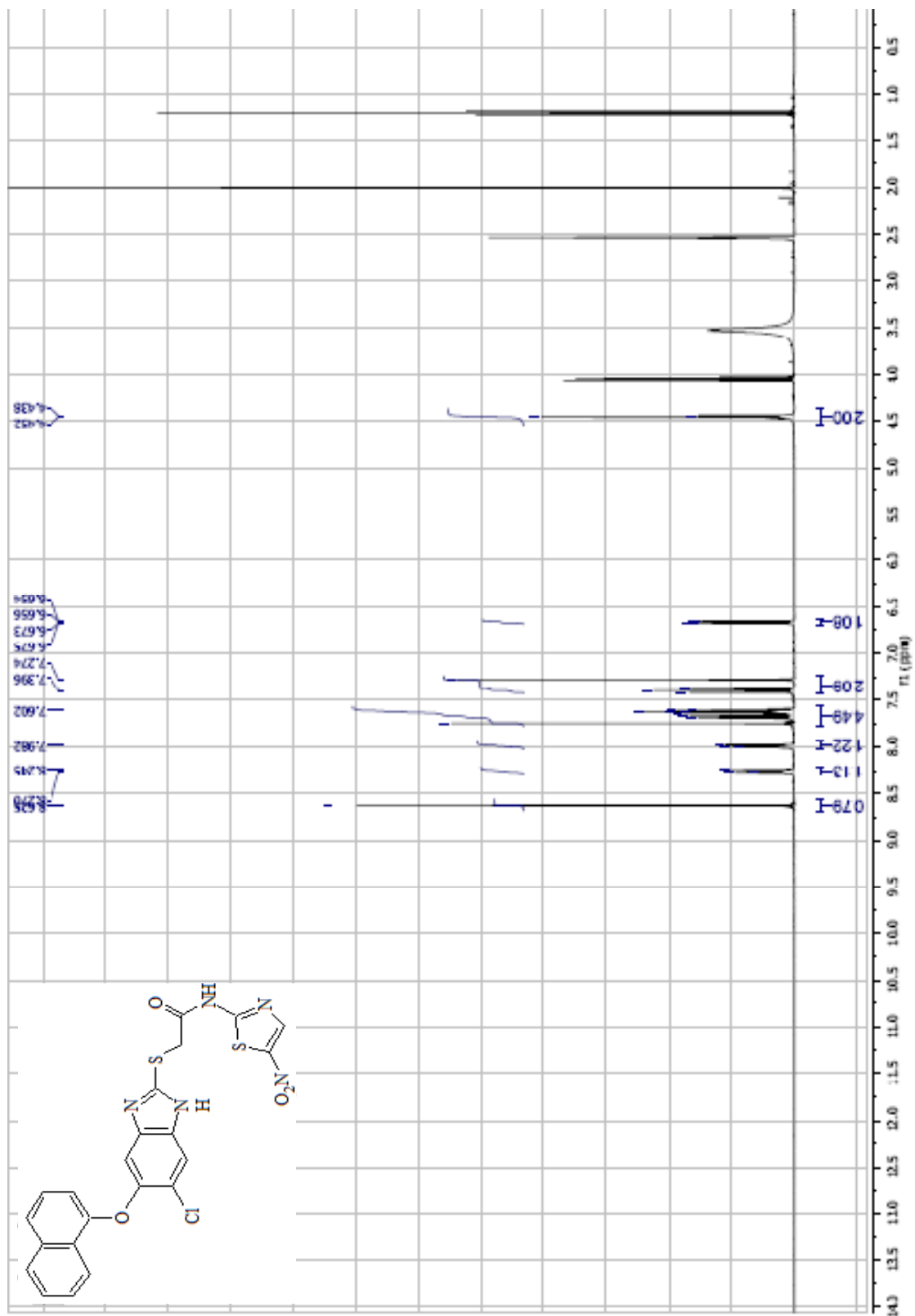
Espectro 19. EM (FAB⁺) 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)



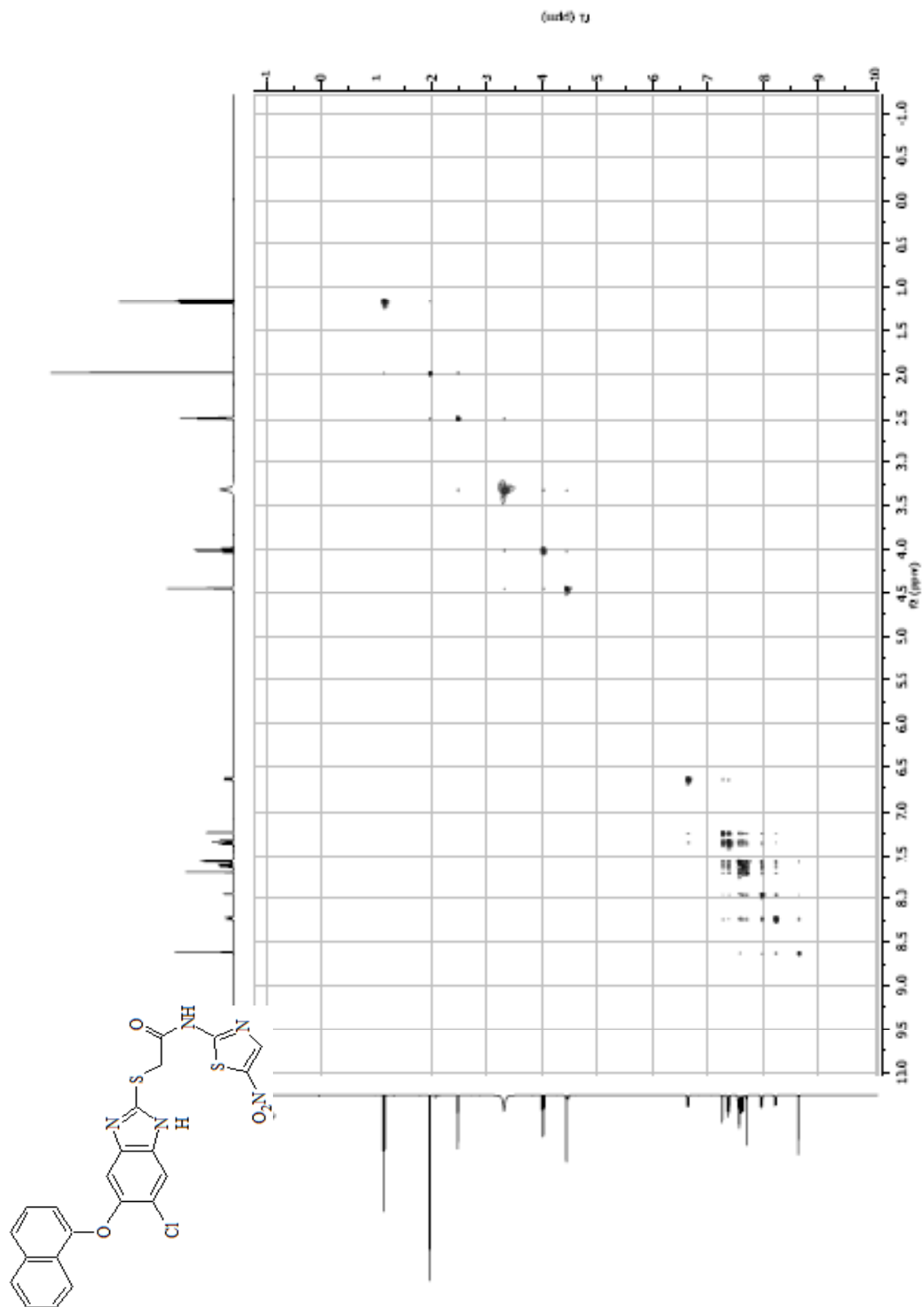
Espectro 20. RMN ¹H 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)



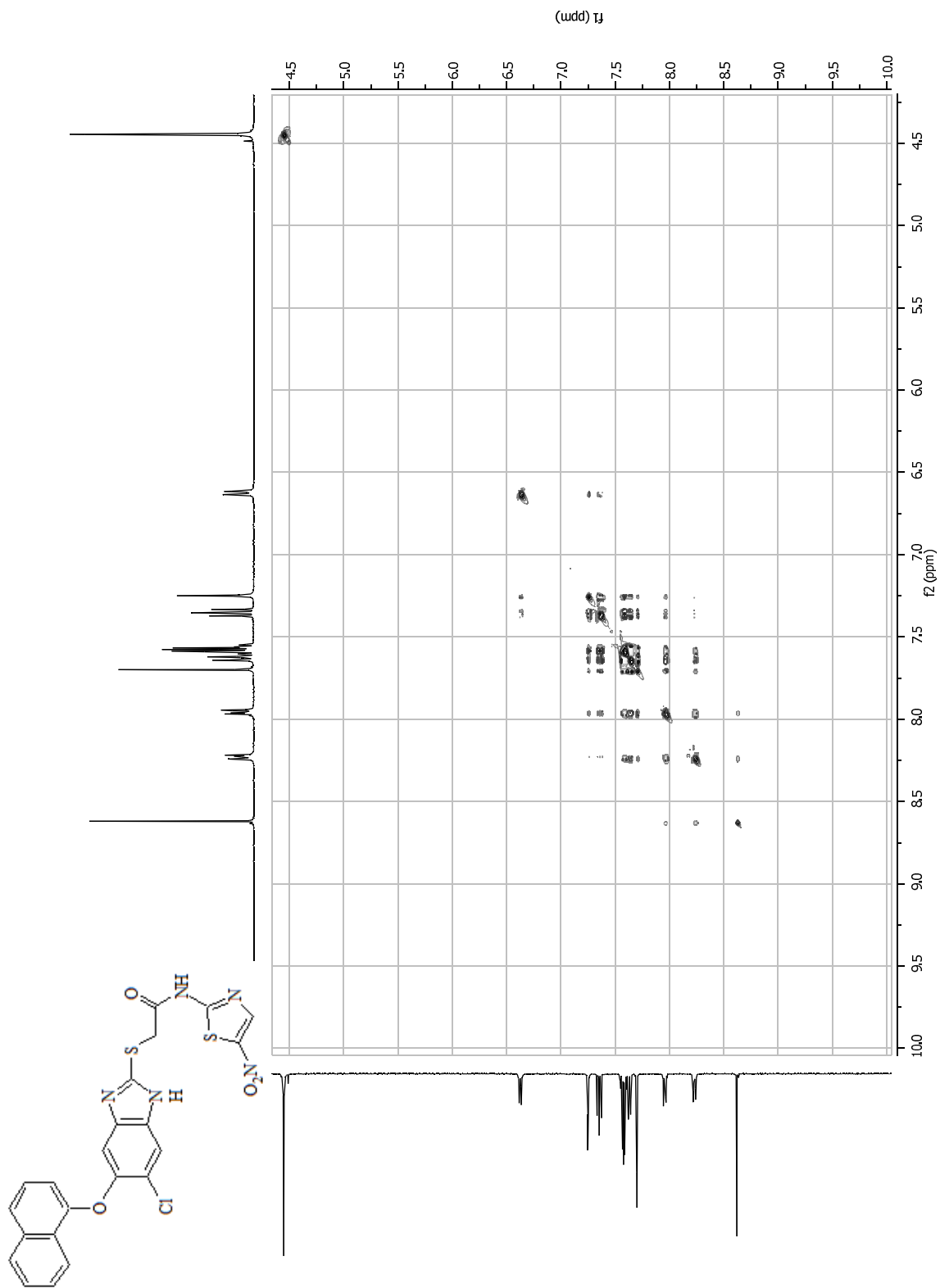
Espectro 21. Expansión de RMN ¹H 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-iltio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)



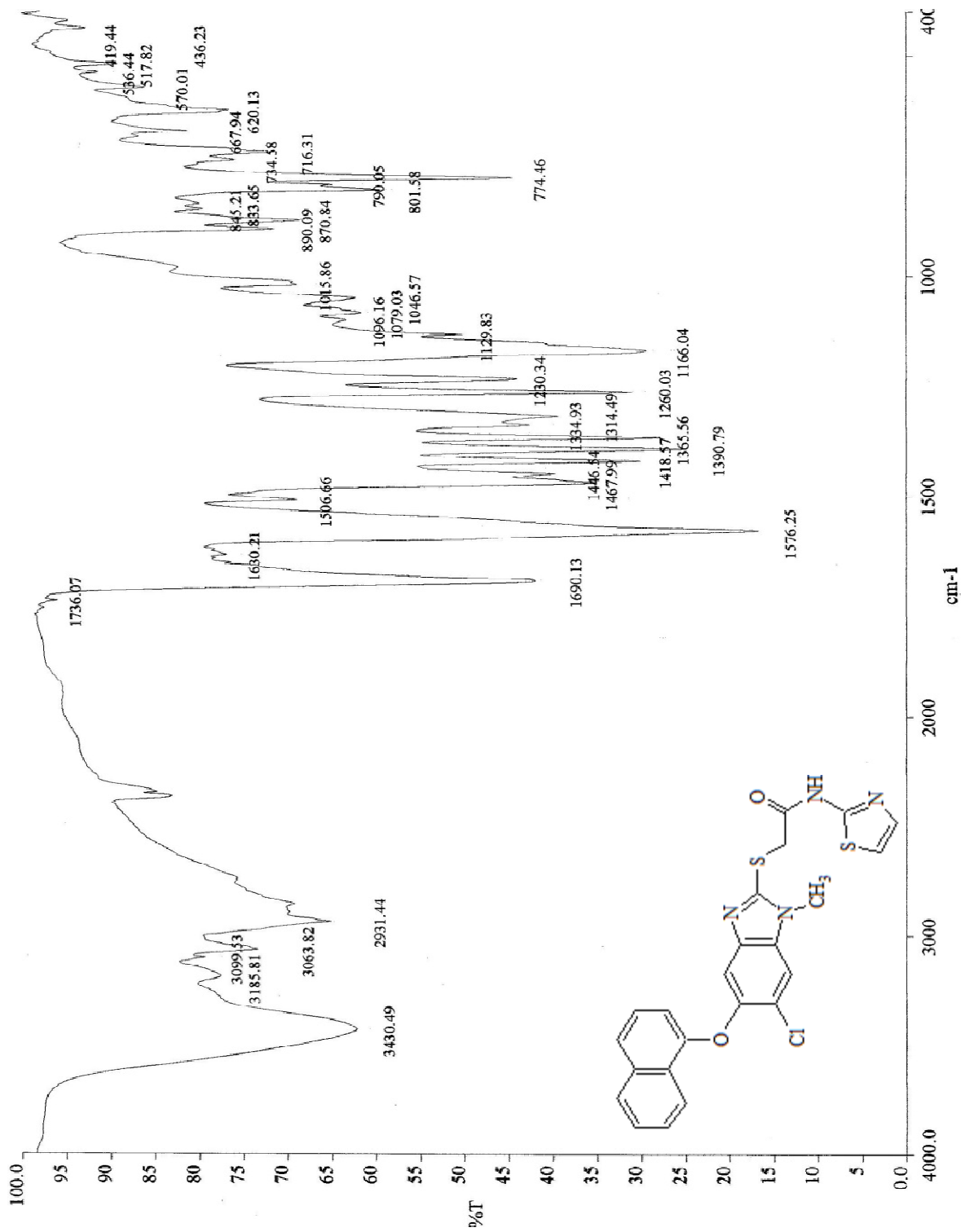
Espectro 22. Intercambio con D₂O de RMN ¹H 2-{{[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio}-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)



Espectro 23. NOESY 2-[[6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B8)

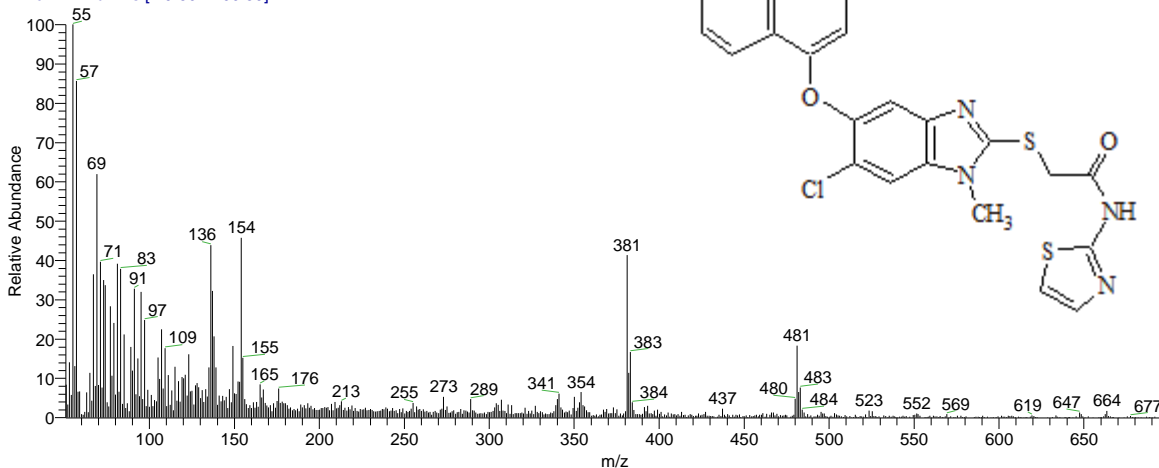


Espectro 24. Expansión NOESY 2-([6-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio)-N-(5-nitro-1,3-fiazol-2-il)acetamida (B8)

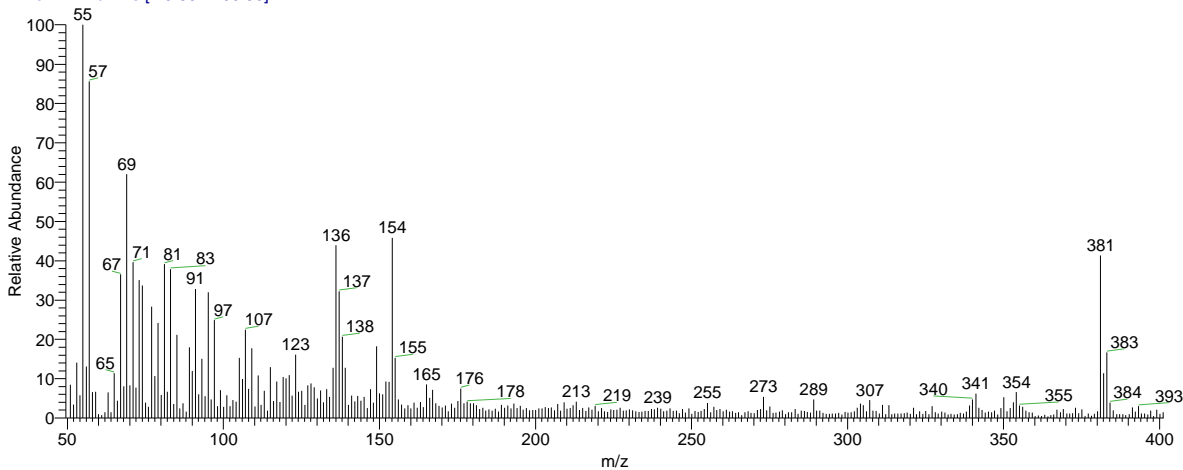


Espectro 25. IR (KBr) 2-([6-Chloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1,3-tiazol-2-il]tio)-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)

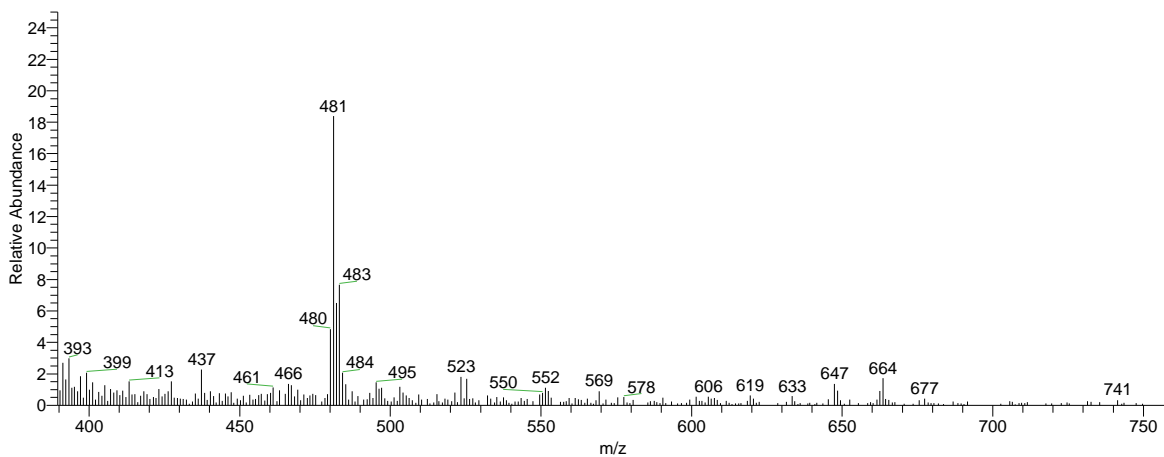
OT2820_1 #1-3 RT: 0.00-0.47 AV: 3 NL: 1.17E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



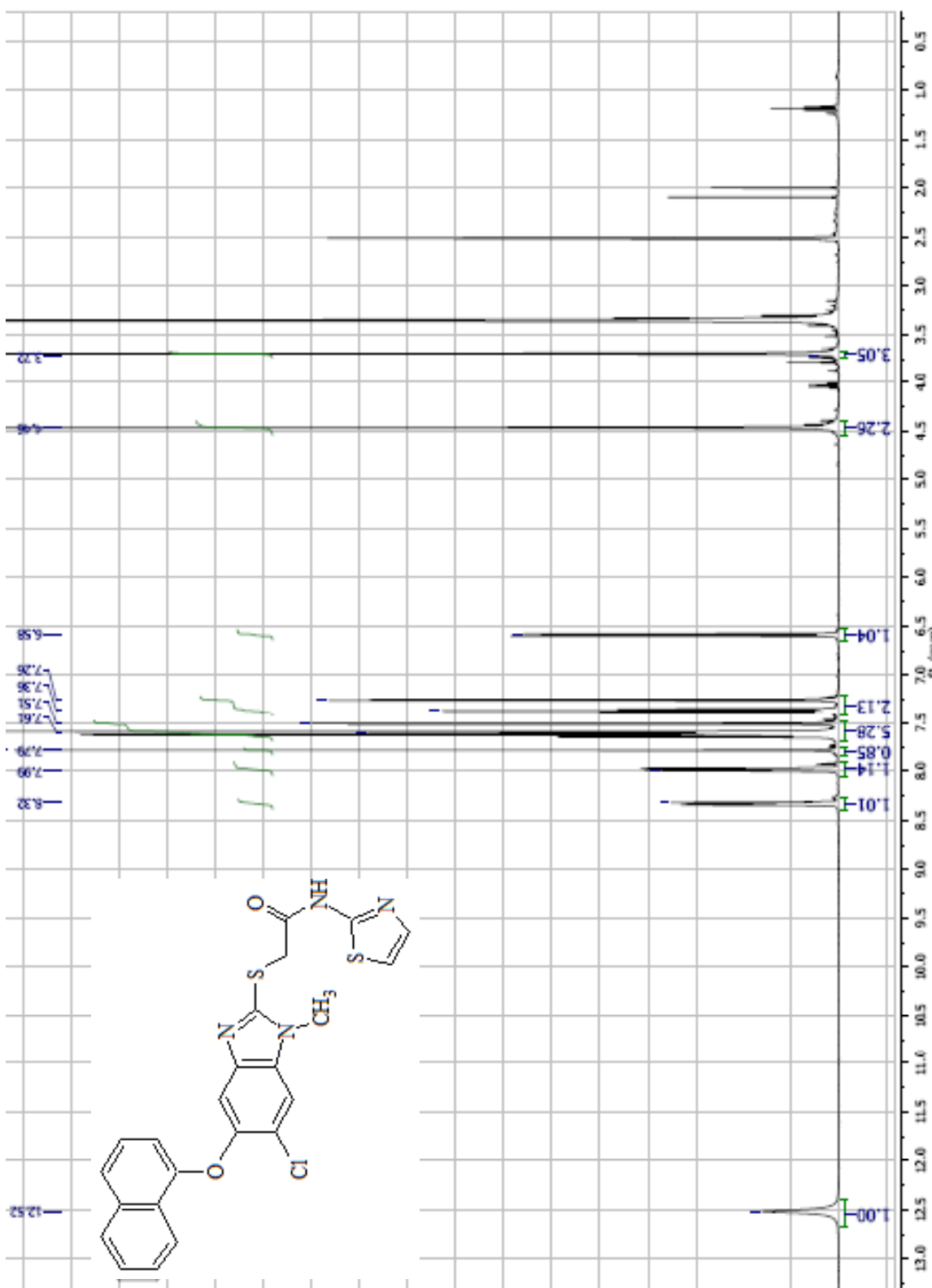
OT2820_1 #1-3 RT: 0.00-0.47 AV: 3 NL: 1.17E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



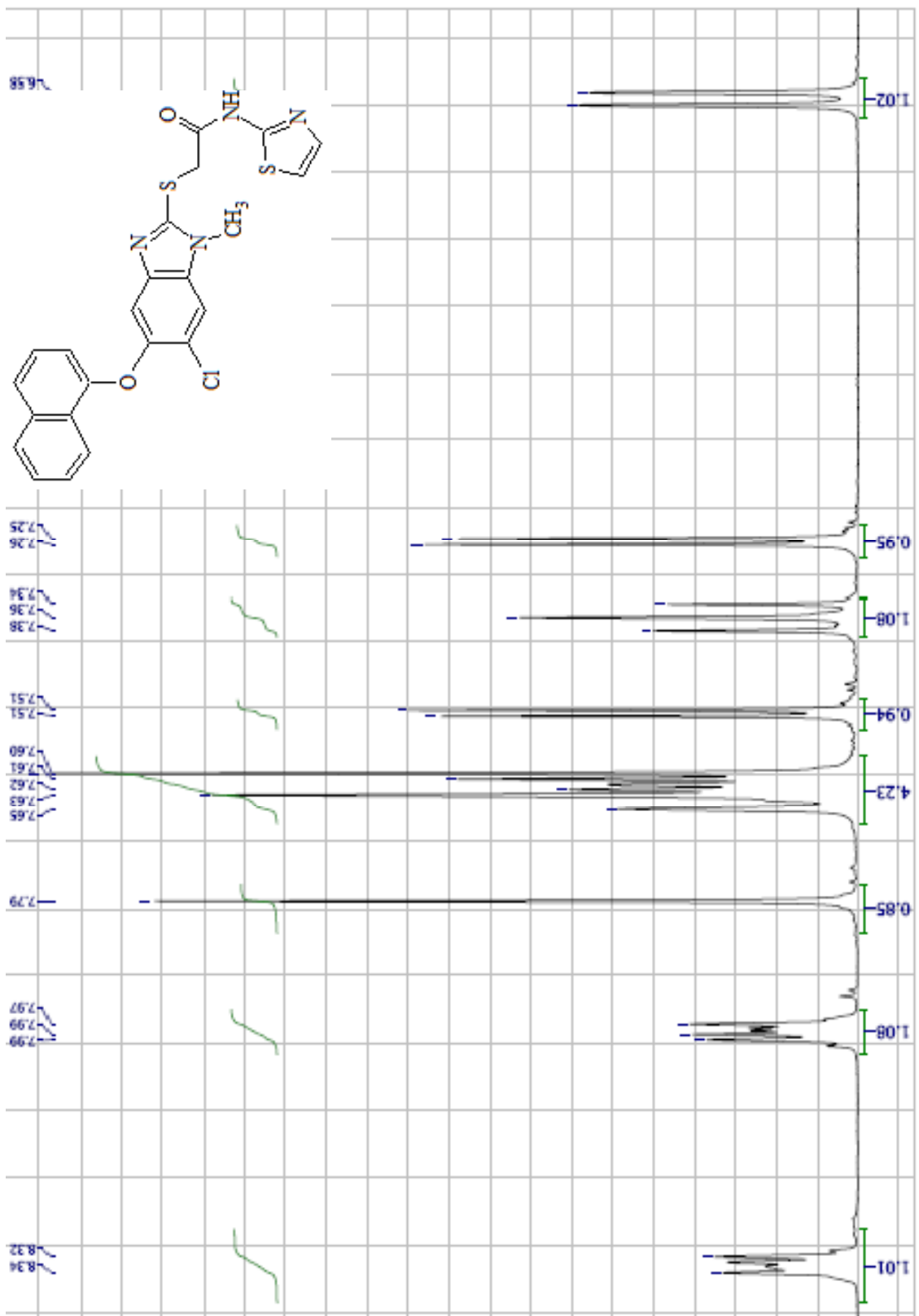
OT2820_1 #1-3 RT: 0.00-0.47 AV: 3 NL: 1.17E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



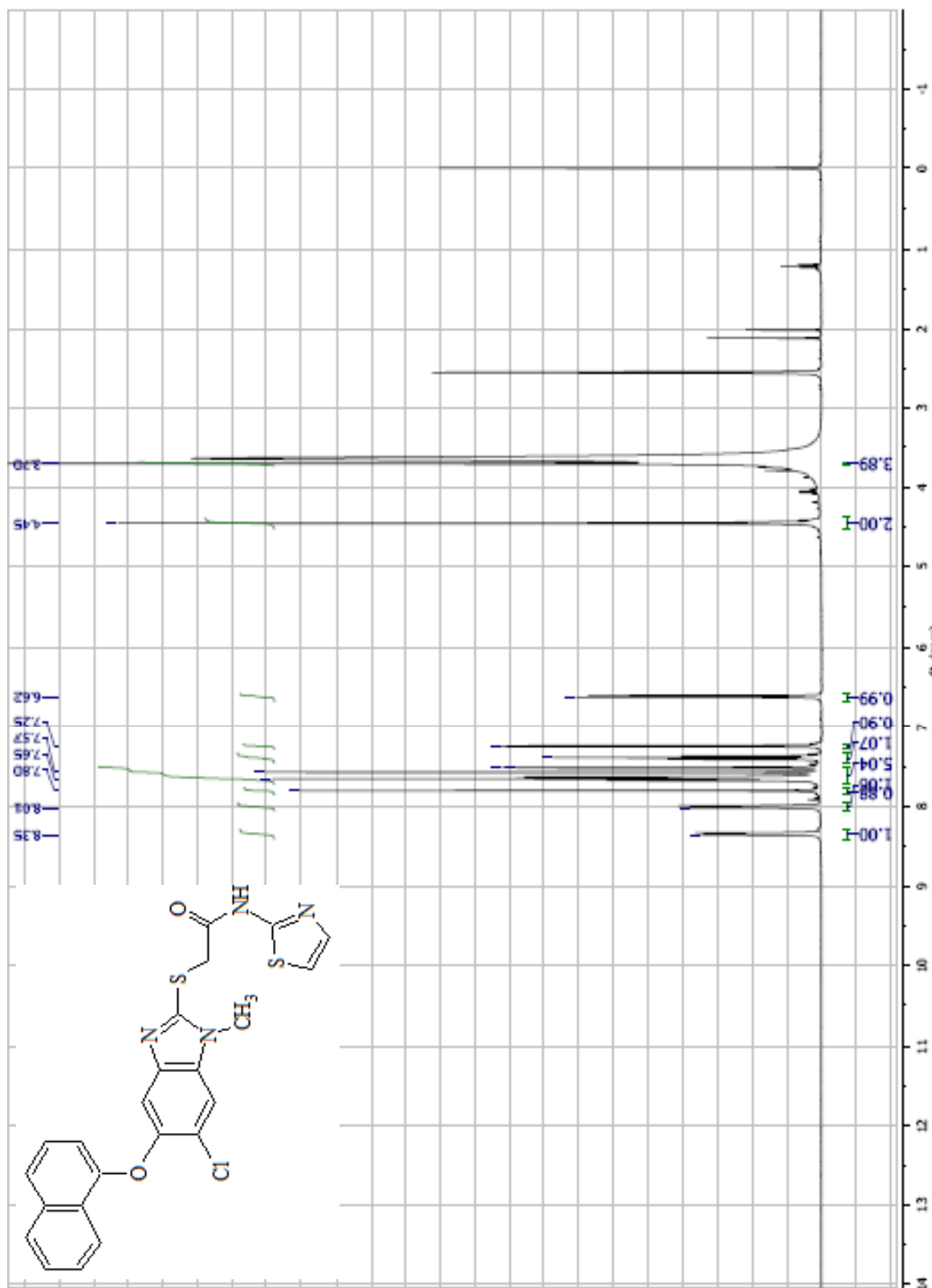
Espectro 26. EM (FAB⁺) 2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



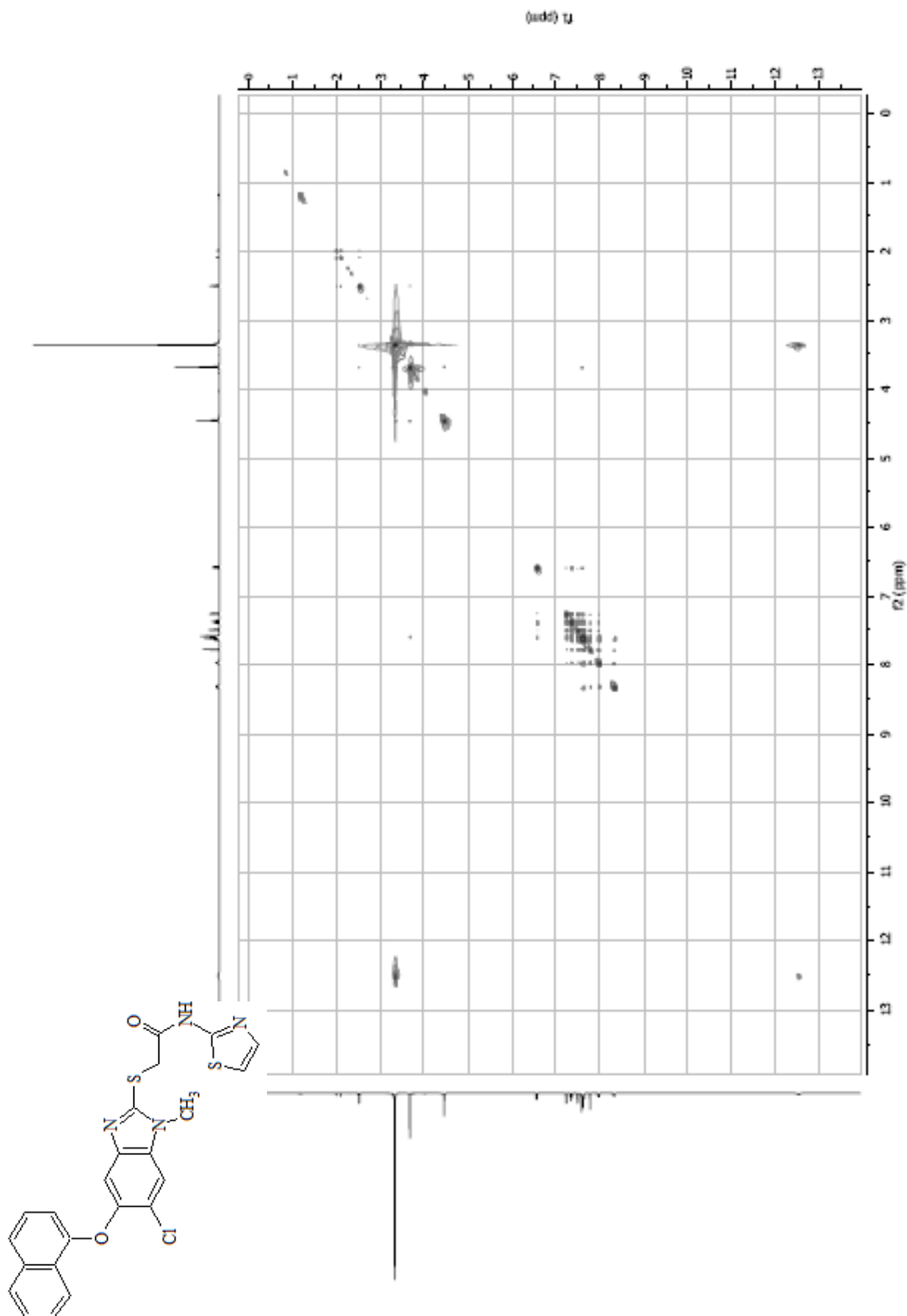
Espectro 27. RMN ¹H 2-[[6-Chloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



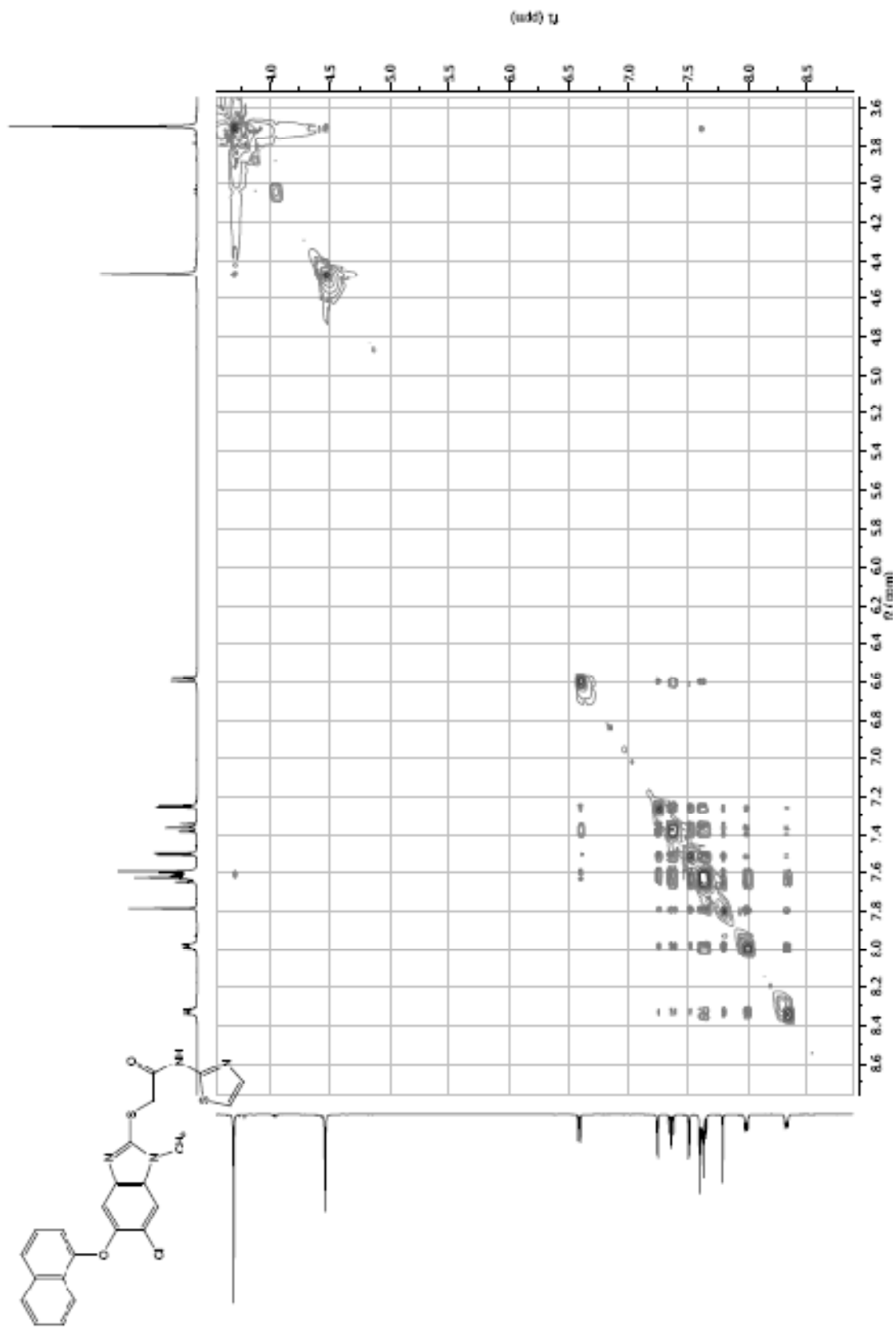
Espectro 28. Expansión RMN ¹H 2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



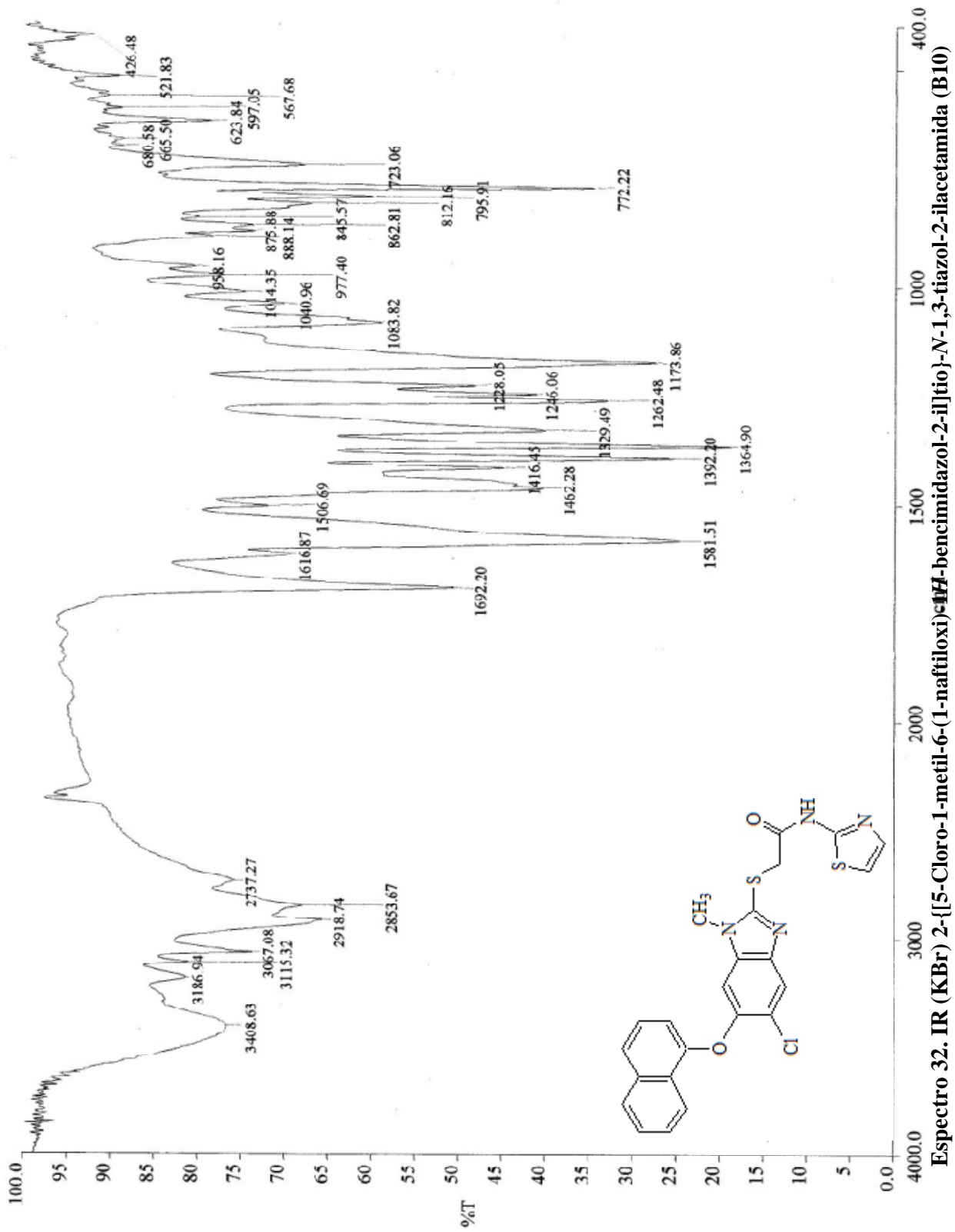
Espectro 29. Intercambio D₂O de RMN ¹H 2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



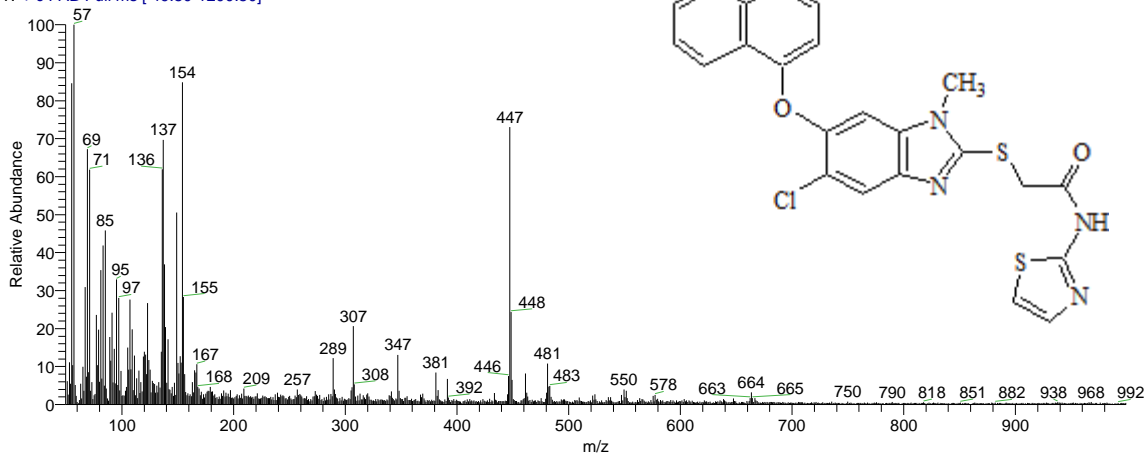
Espectro 30. NOESY 2-[[6-Cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio]-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



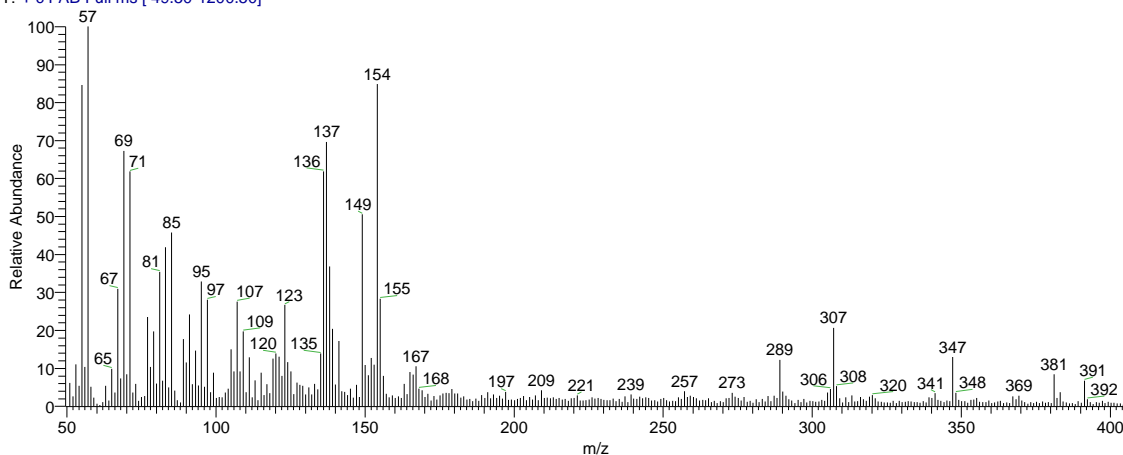
Espectro 31. Expansión NOESY 2-[[6-cloro-1-metil-5-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio}-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B9)



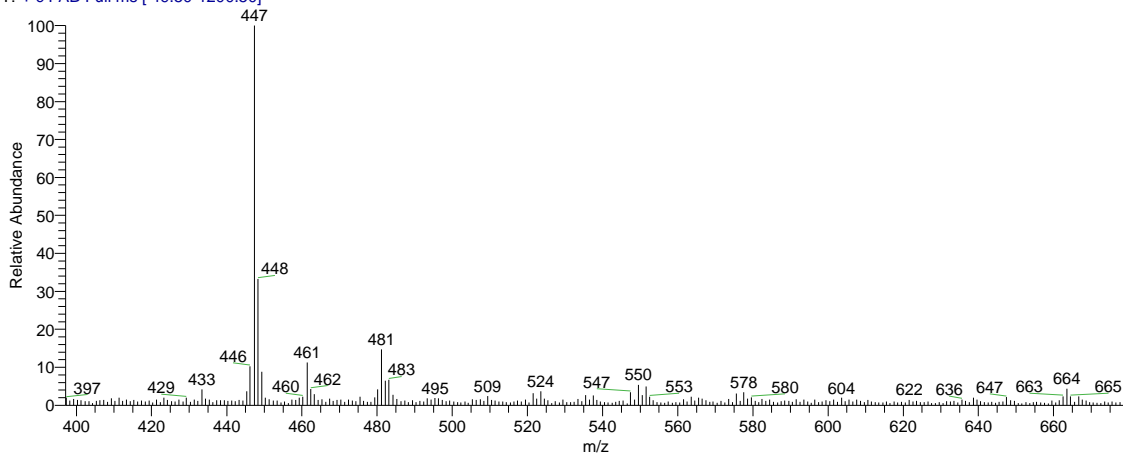
OT2818_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 2.35E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



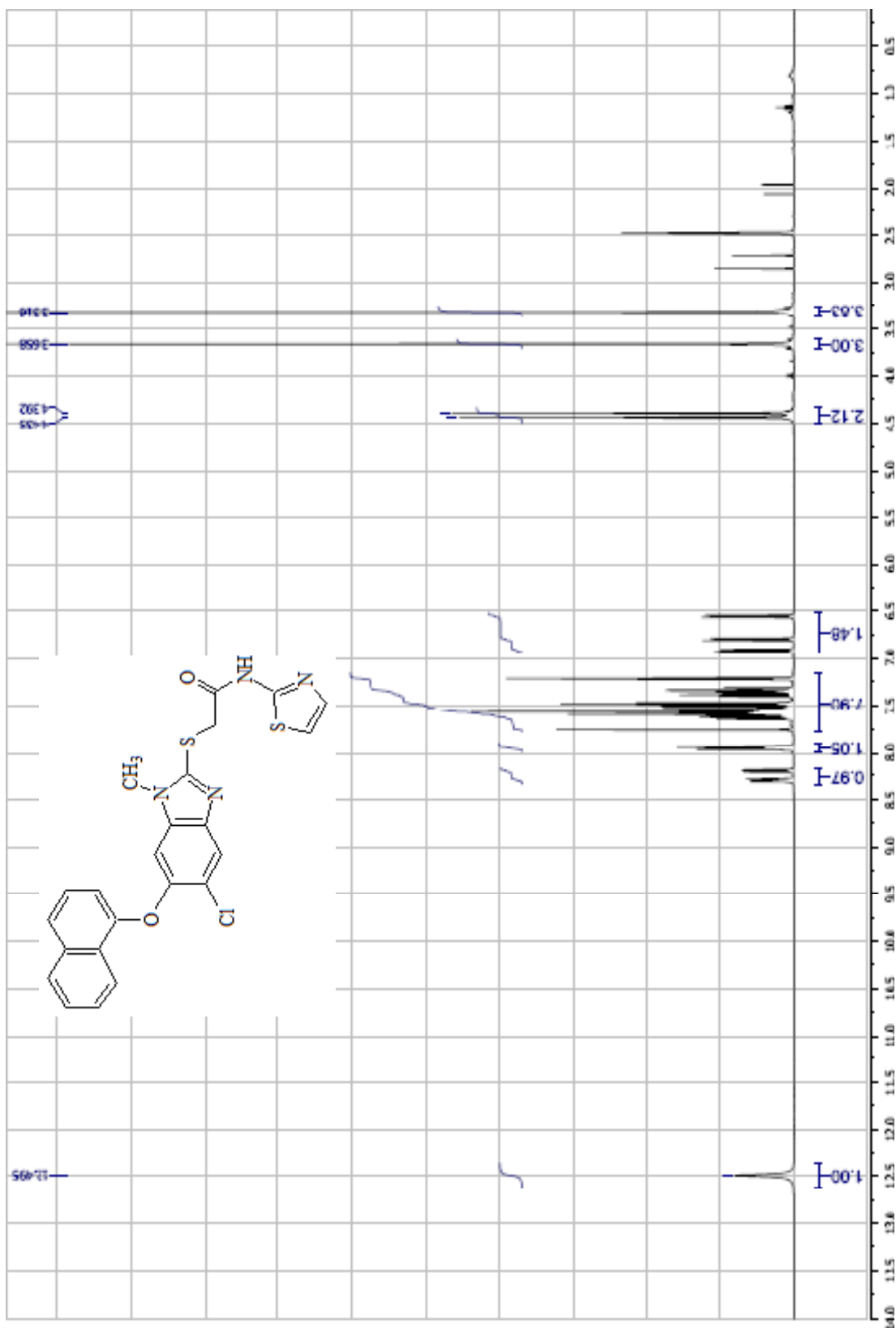
OT2818_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 2.35E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



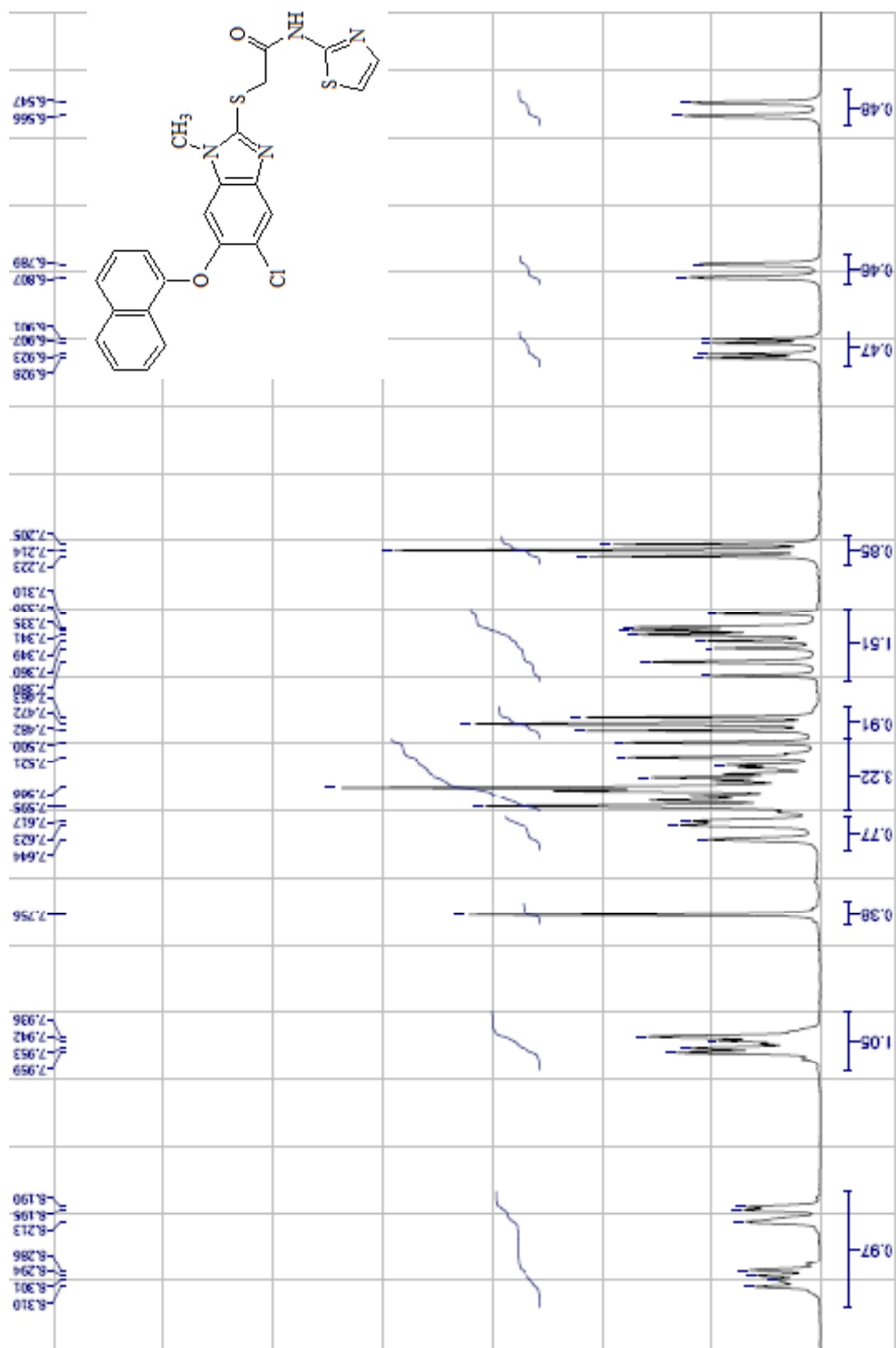
OT2818_1 #1-4 RT: 0.00-0.71 AV: 4 NL: 1.71E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



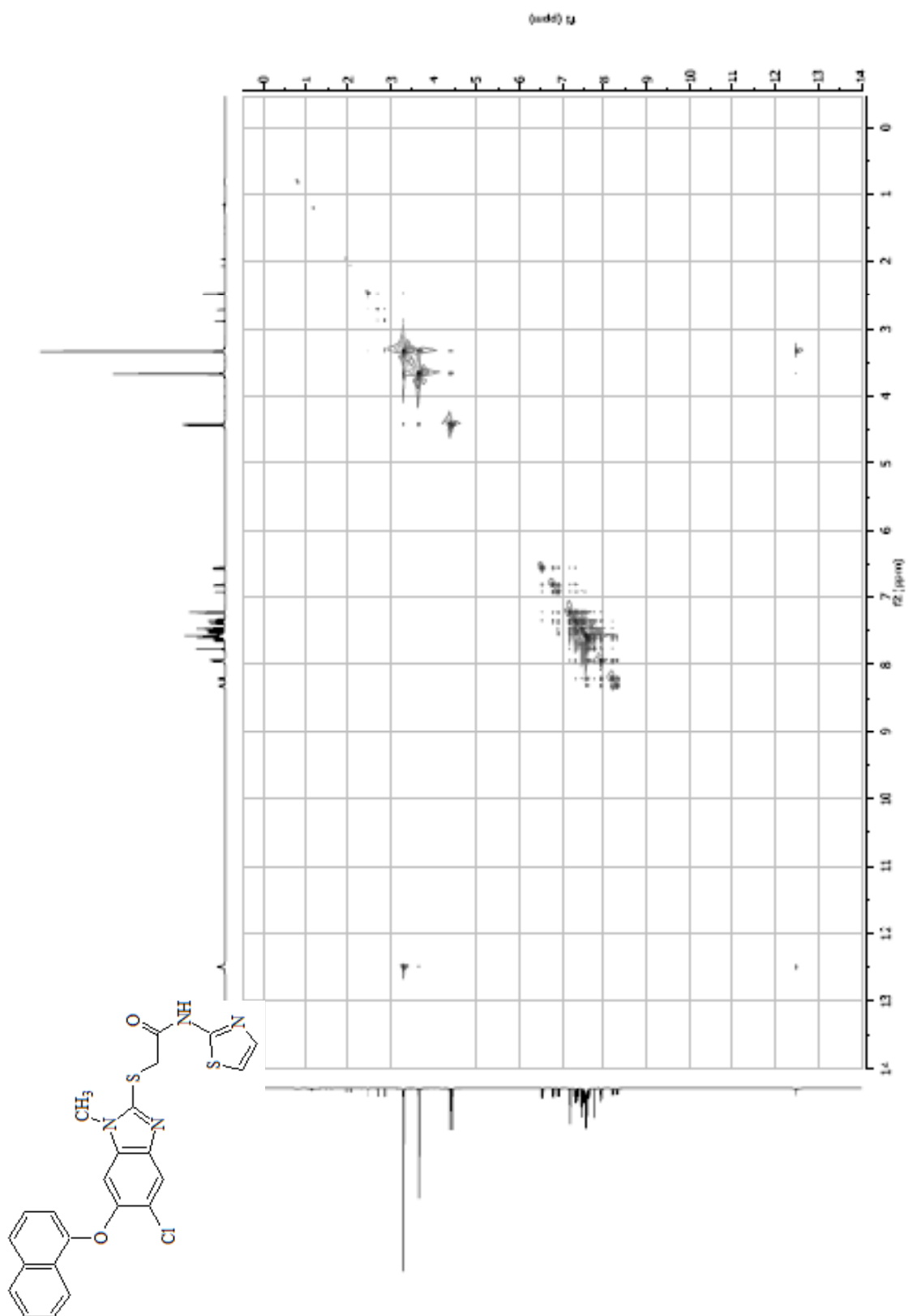
Espectro 33. EM (FAB⁺) 2-[[5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10)



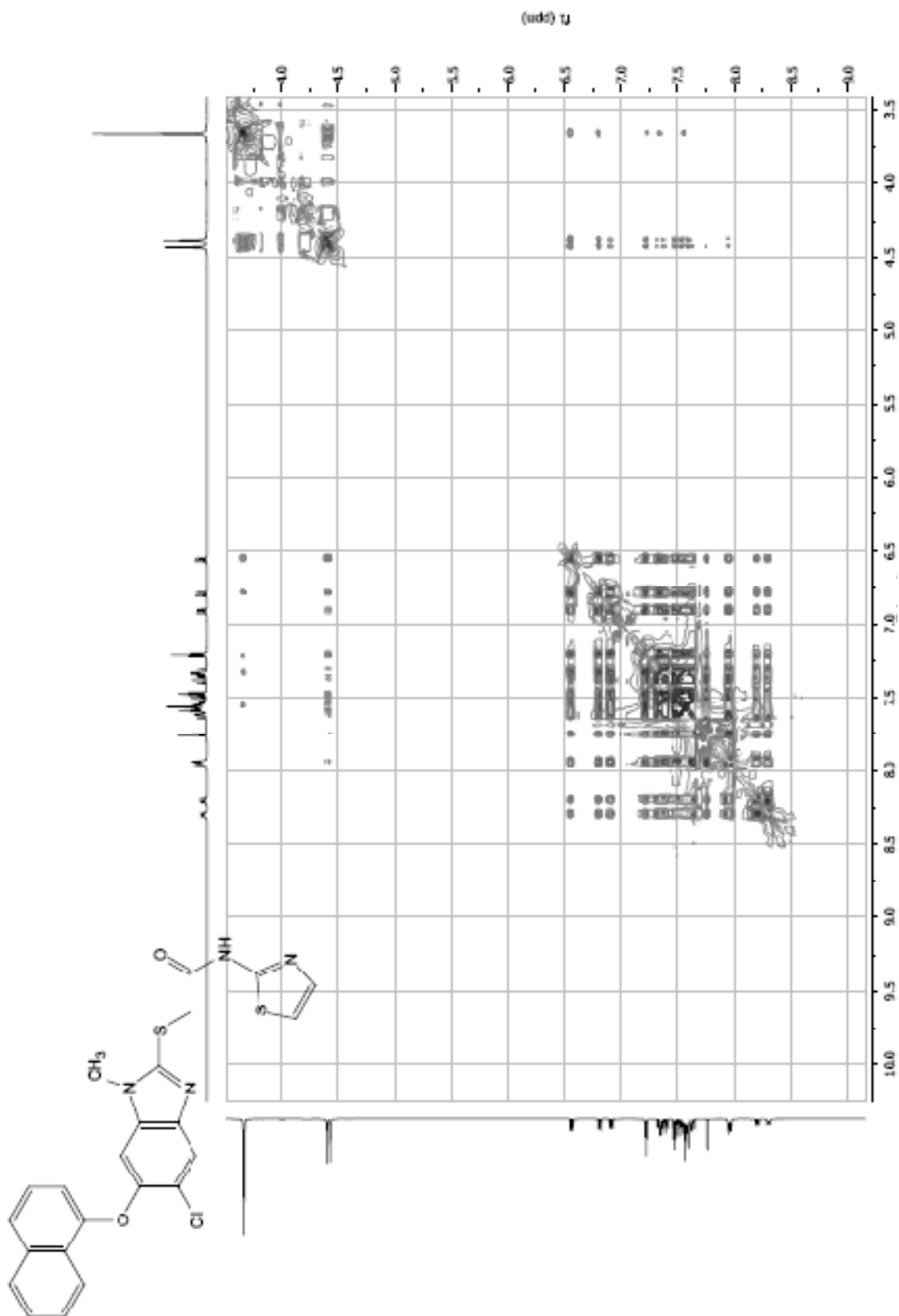
Espectro 34. RMN ^1H 2-([5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio)-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10)



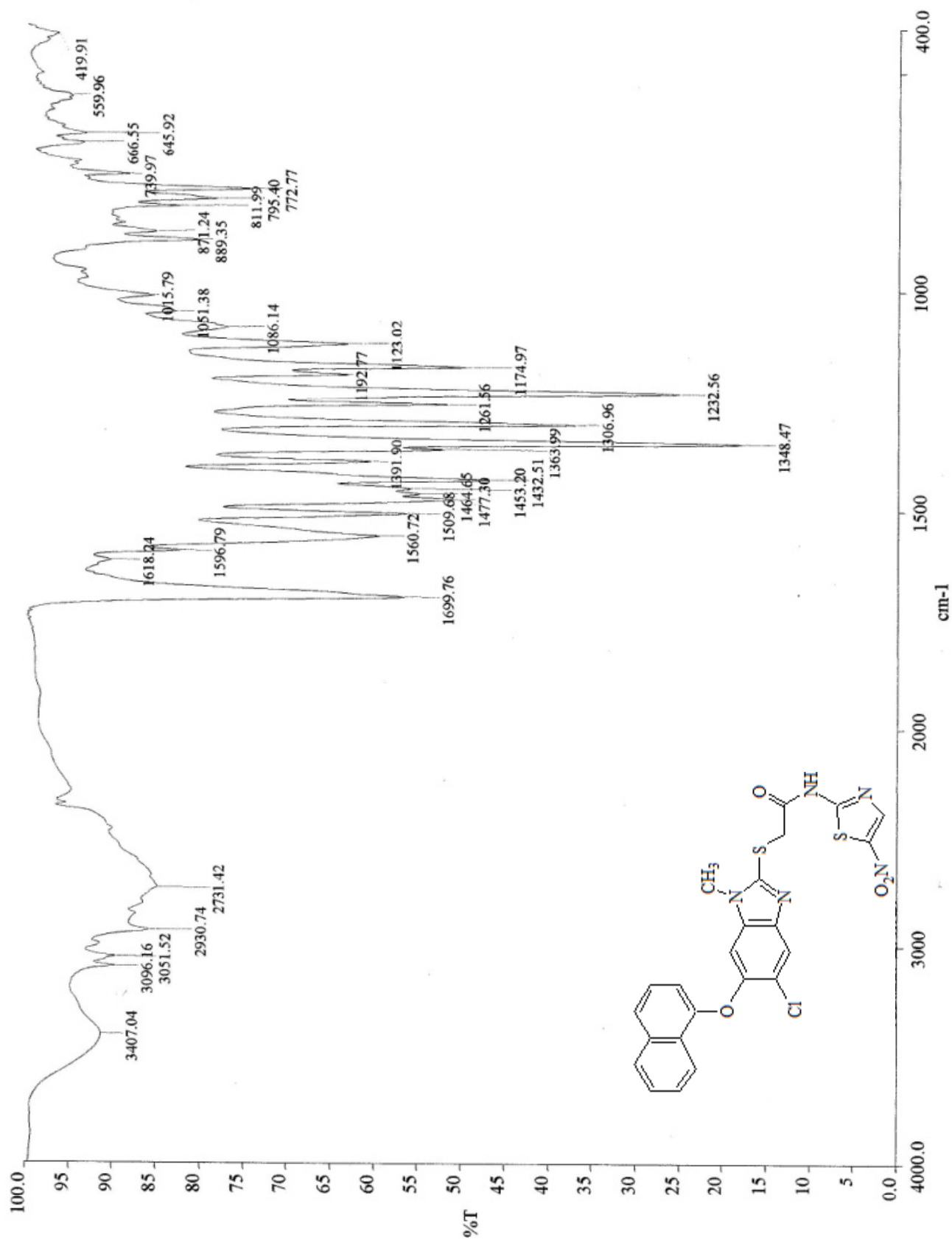
Espectro 35. Expansión RMN ¹H 2-((5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il)tió)-N-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (B10)



Espectro 36. NOESY 2-([5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]tio)-*N*-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10)

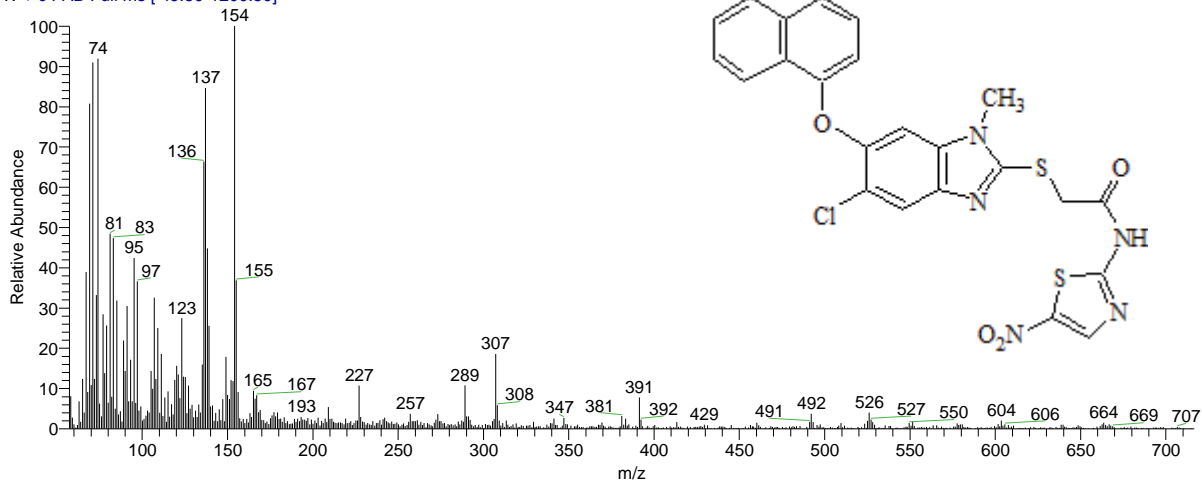


Espectro 37. Expansión NOESY 2-([5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-iltio]-N-1,3-tiazol-2-ilacetamida (B10)

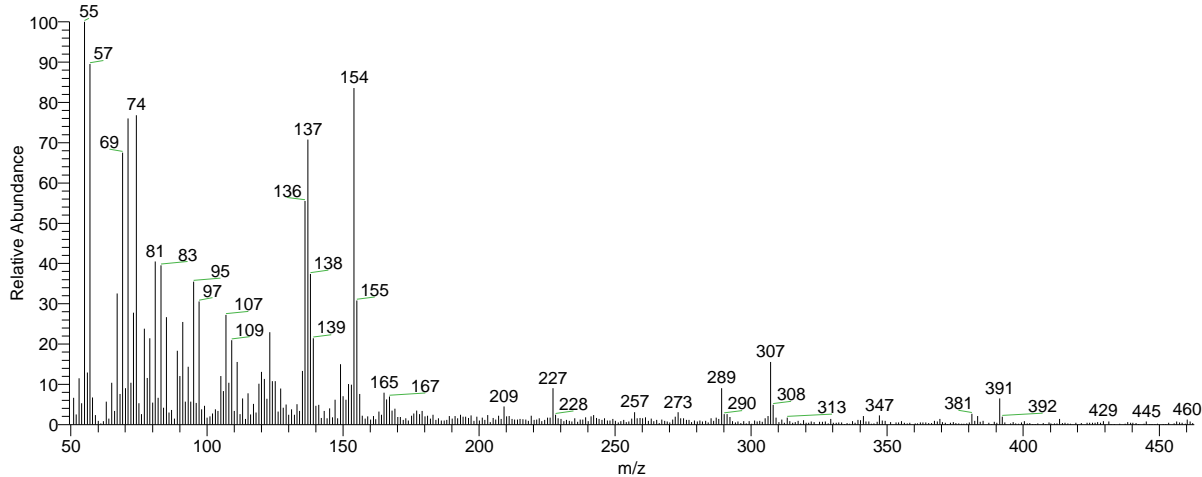


Espectro 38. IR (KBr) 2-[[5-Chloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)

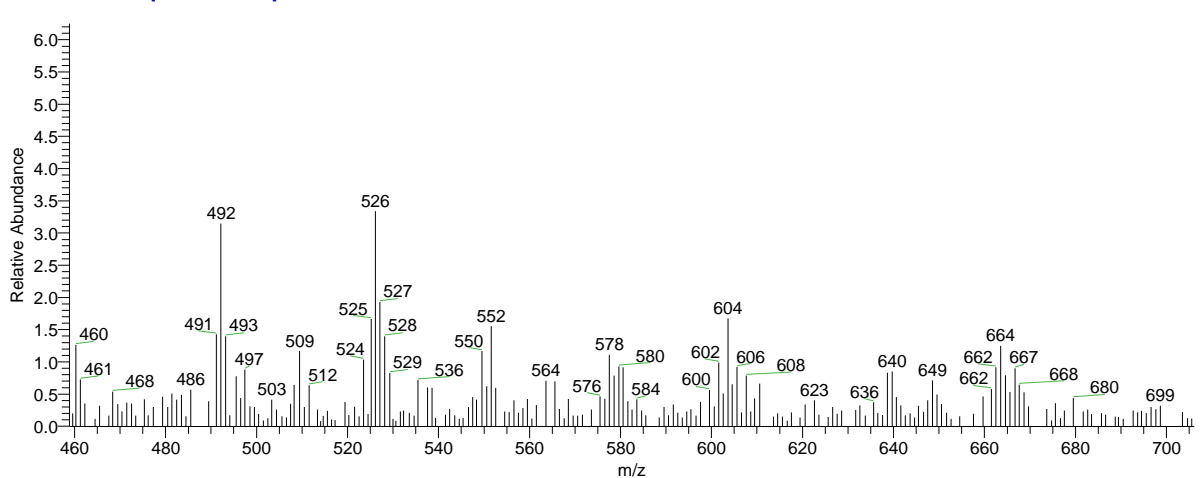
OT2819_1 #1-2 RT: 0.00-0.24 AV: 2 NL: 1.33E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



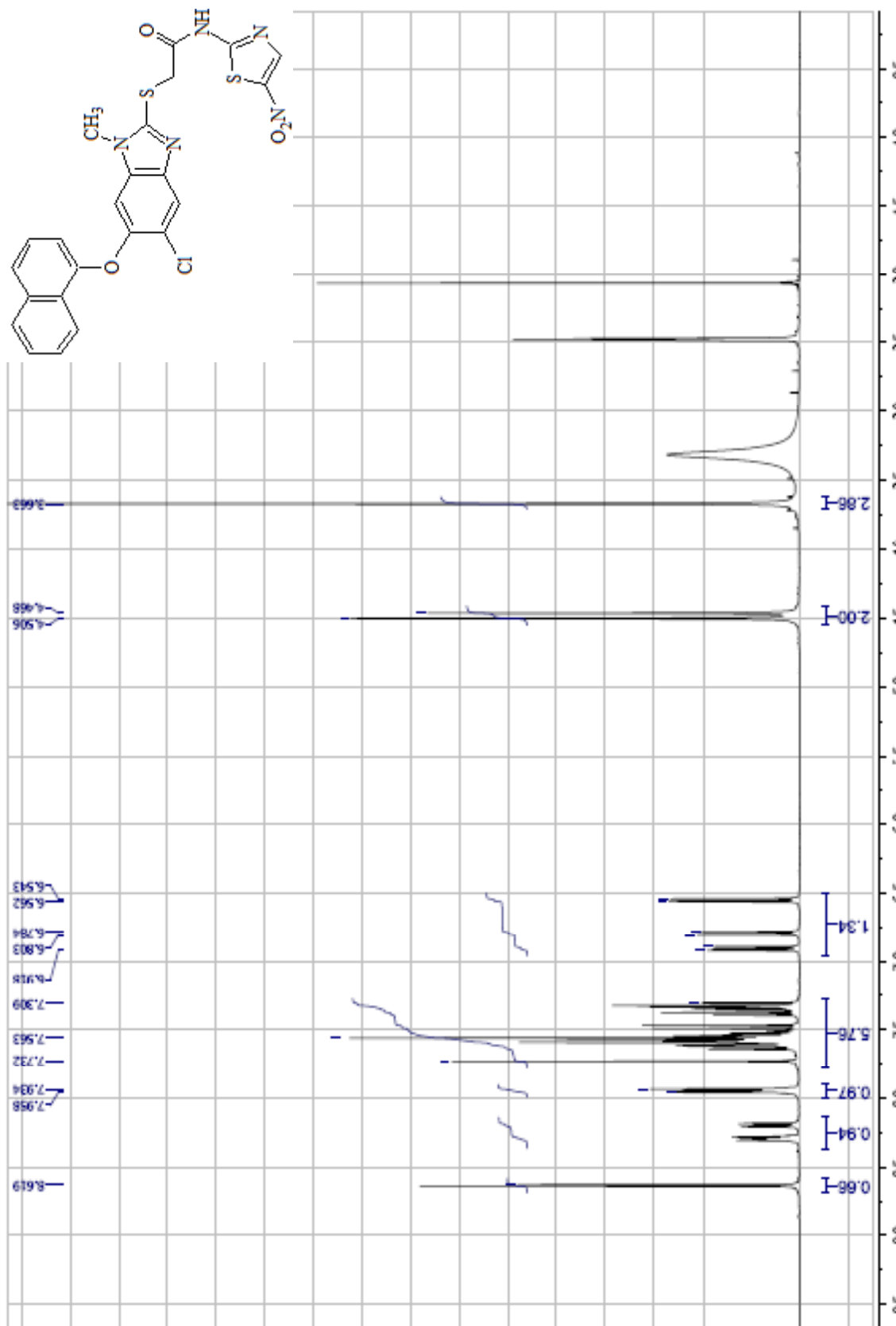
OT2819_1 #1-2 RT: 0.00-0.24 AV: 2 NL: 1.60E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



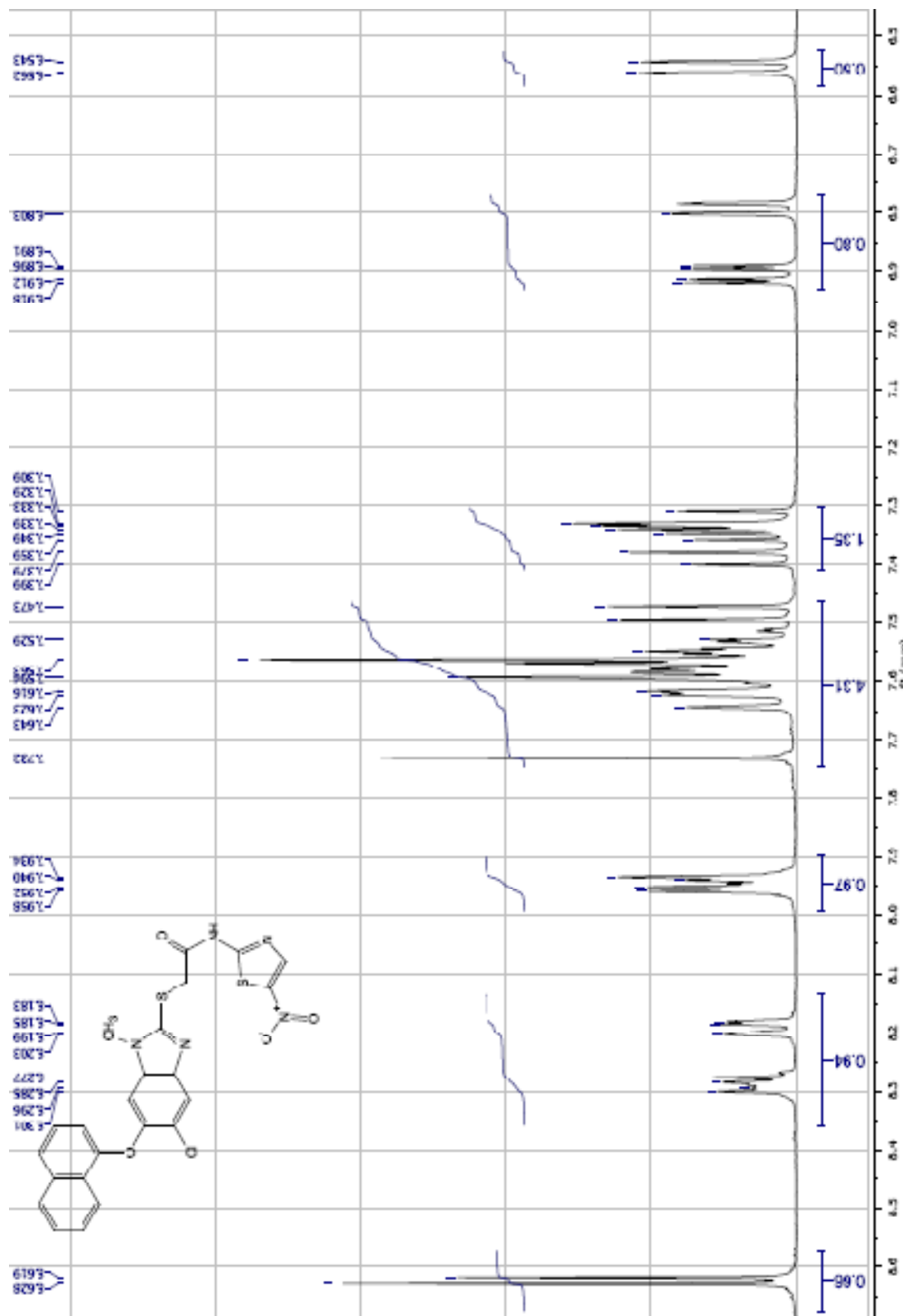
OT2819_1 #1-2 RT: 0.00-0.24 AV: 2 NL: 1.60E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



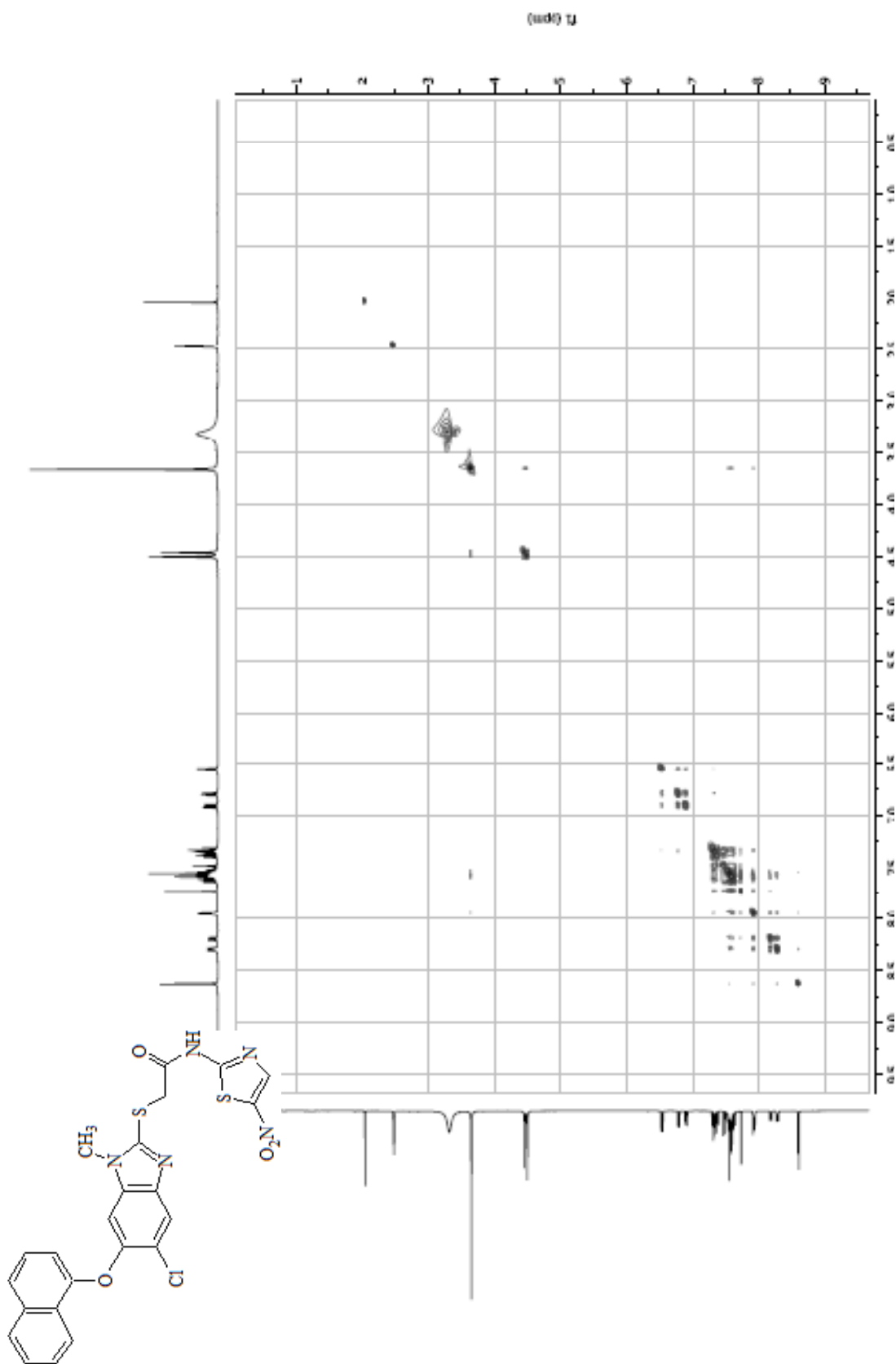
Espectro 39. EM (FAB⁺) 2-[[5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol-2-il]tio]-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)



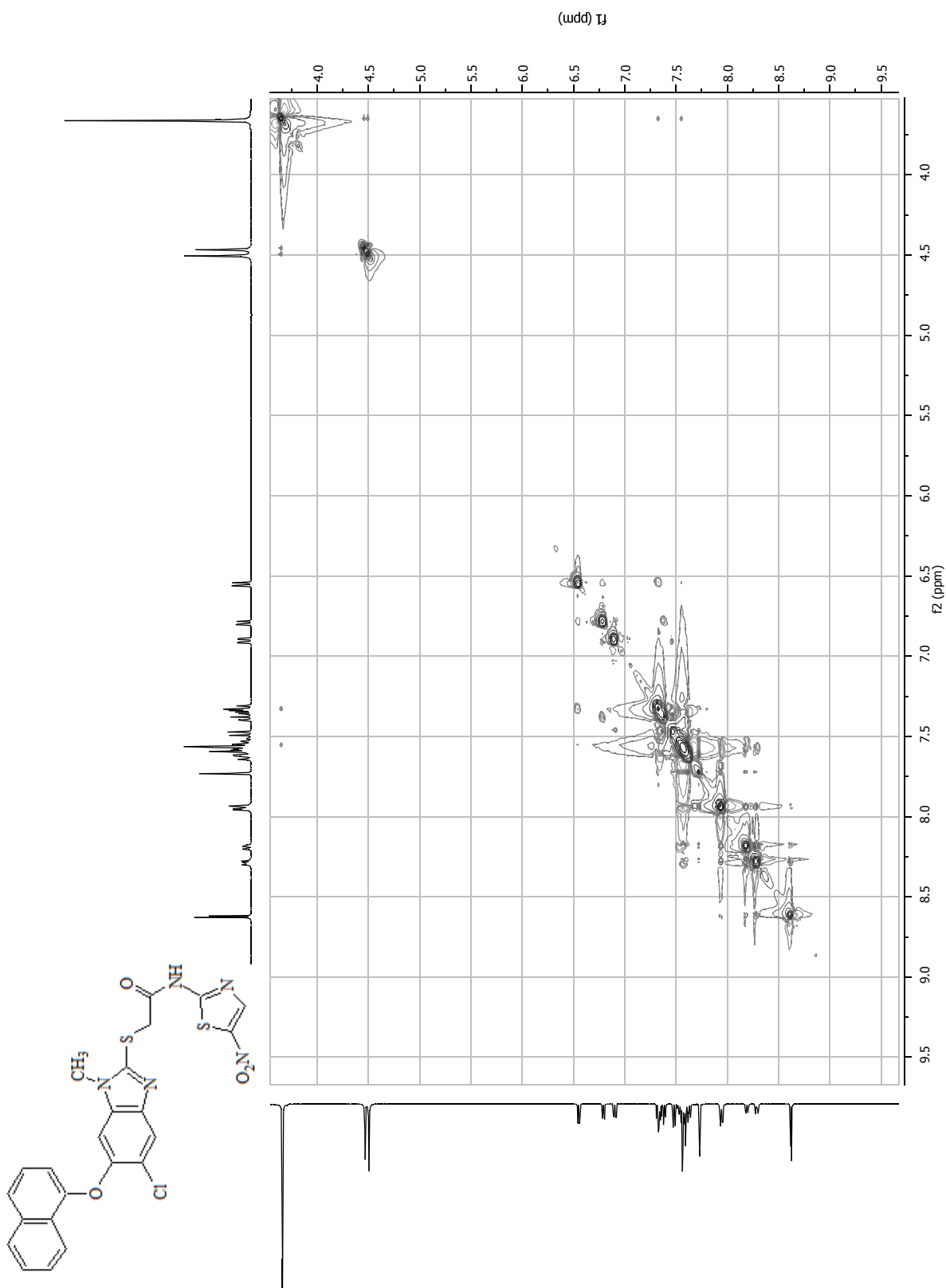
Espectro 40. RMN ¹H 2-([5-Cloro-1-metil-6-(1-nafiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)



Espectro 41. Expansión RMN ^1H 2-[[5-Chloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]ilfio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)



Espectro 42. NOESY 2-{{[5-Chloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tió}-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)



Espectro 43. Expansión NOESY 2-([5-Cloro-1-metil-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]tio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (B12)